

76. Wong Y. [et al.] Metabolic syndrome and kidney stone disease: a systematic review of literature. J Endourol. 2016;30(3):246–253. doi: 10.1089/end.2015.0567.
77. Gajiyev N.K. [et al.] Urolithiasis and metabolic syndrome. Pathophysiology of stone formation. Jeksperimental'naja i klinicheskaja urologija. 2018;1:66-75. (In Russ.) (Gadzhiev N.K. [et al.] Urolithiasis and metabolic syndrome. Pathophysiology of stone formation. Experimental and clinical urology. 2018;1:66-75).
78. Derkach I.A. The role of the intestine in the development of urolithiasis. Novosti mediciny i farmacii. 2015;1(527):33-37. (In Russ.) (Derkach I.A. Significance of the intestine in the development of urolithiasis. Novosti medicina i farmacii [News of medicine and pharmacy]. 2015;1(527):33-37).
79. Kazmirchuk A.V. [et al.] The role of immune status and redox potential in the pathogenesis of secondary pyelonephritis against urolithiasis. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2016;3:65. (In Russ.) (Kazmirchuk A.V. [et al.] The role of immune status and redox potential in the pathogenesis of secondary pyelonephritis at urolithiasis. Modern problems of science and education. 2016;3:65).
80. Saenko VS, Pesegov SV Interdisciplinary approach for the prevention of recurrent urolithiasis. Urologija. 2020;5:87-92. (In Russ.) (Sayenko V.S., Pesegov S.V. Interdisciplinary approach to the prevention of recurrent urolithiasis. Urology. 2020;5:87-92). doi: 10.18565/urology.2020.5.87-92.
81. Fu X., Dong D. Bioinformatic analysis of microRNA sequencing data. Methods Mol Biol. 2018;1751:109-125. doi: 10.1007/978-1-4939-7710-9_8.

УДК 616.699

© Коллектив авторов, 2023

Ш.Н. Галимов¹, И.Д. Громенко¹, К.Ш. Галимов²,
Р.И. Громенко¹, Д.Д. Громенко¹, Э.М. Муратов³, П.Ф. Литвицкий²

КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ЭЯКУЛЯТА CASA:

ПРЕИМУЩЕСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Уфа

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), г. Москва

³Московский научный исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Москва

Компьютерный анализ эякулята (CASA) – это один из способов оценки морфокинетических параметров сперматозоидов, который призван упростить классический метод оценки эякулята. Для CASA характерны: высокая объективность и репрезентативность исследования, большое число исследуемых параметров, высокая скорость исследования, автоматическая фиксация данных, короткое время обучения персонала и возможность оценки гиперактивации сперматозоидов. На сегодняшний день сохраняется ряд проблем в использовании данной методики, таких как зависимость от аппаратов и программного обеспечения, необходимость внутреннего контроля качества и возможность получения ложноположительных или ложноотрицательных результатов. Однако с развитием технологий возможно преодоление этих трудностей. В перспективе ожидается переход с расчета изменения положения головки сперматозоида на оценку жгутиковой волны, что позволит избежать ошибок и определить кинетические характеристики клеток. Возможным развитием CASA могут стать новые пути применения методики: оценка количества антиспермальных антител, определение уровня ДНК фрагментации, повышение качества отбора сперматозоида для программы интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ).

Ключевые слова: мужское бесплодие, компьютерный анализ эякулята, CASA.

Sh.N. Galimov, I.D. Gromenko, K.Sh. Galimov,
R.I. Gromenko, D.D. Gromenko, E.M. Muratov, P.F. Litvitskiy

COMPUTER ANALYSIS OF CASA EJACULATE:

ADVANTAGES AND PROSPECTS

Computer-assisted ejaculate analysis (CASA) is one of the ways to assess morphokinetic parameters of spermatozoa and is intended to simplify manual assessment of ejaculate by a specialist. CASA is characterized by high objectivity and representativeness of the study, a large number of investigated parameters, high study speed, automatic data capturing, short staff training time, and possibility of sperm hyperactivation assessment. To date, a number of problems remain in the use of this technique, such as dependence on hardware and software, the need for internal quality control and the possibility of false-positive or false-negative results. However, with the development of technology there are plans to overcome these difficulties. In the future, the transition from calculating changes in the position of the sperm cell head to the evaluation of the flagellar wave is expected, which will help to avoid errors, and better characterize the kinetic characteristics of the cells. Possible development of CASA could be new ways of using the technique, such as evaluation of the number of antisperm antibodies, determination of DNA fragmentation level, improving the quality of sperm selection for intracytoplasmic sperm injection (ICSI) program.

Key words: male infertility, computer analysis of ejaculate, CASA.

Диагностика мужского бесплодия начинается с анализа эякулята (спермограммы), особенностью которого является оценка не только морфологических, но и кинетических параметров сперматозоидов. В связи с этим существуют ограничения в возможностях об-

следования, связанные с необходимостью получения живых, нефиксированных клеток. На сегодняшний день оценка эякулята в ручном режиме является «золотым стандартом» ВОЗ. Однако переход на компьютерный анализ эякулята (CASA) для клиник, занимающихся

лечением бесплодия и для научно-исследовательских лабораторий становится все более обыденным [1,2]. Данное явление обусловлено как рядом преимуществ компьютерных технологий над человеческими способностями, так и новыми возможностями CASA в перспективе.

Принцип метода

Компьютерный анализ эякулята (CASA) представляет собой компьютерную систему для морфологической характеристики и количественной оценки подвижности отдельных сперматозоидов и выявления стереотипов подвижности [3]. Анализ осуществляется за счет отслеживания пути движения головки сперматозоида. Современное вычислительное оборудование дает возможность одновременно оценивать морфокинетические параметры тысяч сперматозоидов и распределять их по группам – на 4 классические группы по степени их подвижности: высоко прогрессивно-подвижные (A), прогрессивно-подвижные (B), непрогрессивно-подвижные (C) и неподвижные (D). Помимо этого, компьютерный анализ способен оценивать следующие параметры и их производные:

1. VCL (velocity along the curvilinear path) – скорость движения сперматозоидов по индивидуальной криволинейной траектории (мкм/с). Параметр рассчитывается из длины траектории, пройденной головкой сперматозоида за определённое время, измеренной под микроскопом.

2. VSL (velocity along the straight-line path) – скорость прямолинейного движения (мкм/с), рассчитанная по прямой линии между стартовой и финишной точками пути.

3. VAP (velocity along the average path) – скорость по среднему пути (мкм/с). Данный параметр вычисляется как усредненная по времени скорость по плавно изогнутой траектории, рассчитанной в соответствии с алгоритмами компьютерного анализа спермы.

4. ALH (the amplitude of the lateral displacement of the head) – латеральное отклонение головки сперматозоида (мкм), это величина бокового смещения головки сперматозоида относительно средней траектории.

5. LIN (linearity) – степень волнистости криволинейного пути. Рассчитывается как VSL/VCL ;

6. WOB (wobble) – степень отклонения фактической траектории относительно усредненной (VAP / VCL);

7. STR (straightness) – степень прямолинейно направленных движений сперматозоида (VSL / VAP);

8. BCF (beat-cross frequency) – частота колебательных движений хвостика.

Преимущества компьютерного анализа эякулята

Основными преимуществами компьютерной системы перед ручным анализом являются меньшая субъективность и большая репрезентативность исследования [3-5]. Schubert et al. обнаружили более низкий коэффициент вариабельности при оценке эякулята с применением CASA, что говорит о большей надежности получаемых результатов и меньшей субъективности [4]. Dearing et al. [5] при сравнении анализа спермы ручным и аппаратными способами выявили более высокую скорость исполнения и меньшие аналитические отклонения при использовании компьютерного анализа. На основании этого постулировали, что CASA имеет большую ценность для прогнозирования оплодотворения в программах ВРТ, чем классический способ оценки.

При оценке морфологии сперматозоида автоматизированные компьютерные системы характеризуются большей объективностью, точностью и воспроизводимостью, чем неавтоматизированные «ручные» системы. Согласно данным ВОЗ, точность и воспроизводимость некоторых систем может достигать 92%, что превосходит самостоятельную оценку опытным специалистом. Другими значимыми достоинствами CASA можно считать высокую скорость исследования, автоматическую фиксацию данных, а также относительно короткое время обучения персонала.

Более того, компьютерный анализ эякулята позволят оценивать специфические параметры подвижности сперматозоидов, недоступные в стандартном обследовании. Большое число исследуемых параметров, характерное для компьютерных систем, способствует повышению объективности анализа аналогично молекулярно-генетическим методам исследования [6,7]. В исследовании на животных демонстрируется высокий уровень корреляции таких показателей, как VAP, VCL и VSL с фертильностью, из перечисленных кинетических параметров VAP имеет наибольшую прогностическую ценность [8]. Те же параметры предложено использовать в качестве критерия принятия решения о типе программы ВРТ. При наличии достаточного количества подвижных сперматозоидов, при VCL более 65 мкм/с и VSL более 40 мкм/с рекомендовано проведение ЭКО, при меньших значениях предлагается проведение ИКСИ [9].

Одним из важных преимуществ CASA

становится возможной оценка гиперактивации сперматозоидов. Этот процесс происходит во время капацитации и проявляется в изменении формы волны жгутика. Для гиперактивации характерны: увеличение амплитуды жгутиковых биений, снижение BCF и появление непрогрессирующей подвижности из стороны в сторону. Данные параметры практически невозможно объективно оценить вручную. Aghazarian et al. демонстрируют рост таких показателей, как VCL, ALH, LIN, при развитии гиперактивации [10].

На воспроизводимость, точность и общее качество результатов CASA могут влиять освещение, подготовка образца, микроскоп, аппаратное и программное обеспечение, а также технические трудности в правильной дифференциации головок сперматозоидов от фрагментов клеток и артефактов [11]. Затрудняет исследование и формирование так называемых микроагрегатов – нескольких сперматозоидов, слипшихся друг с другом головками. Для программы данный агрегат не представляет интереса из-за своего крупного размера, а поэтому он не учитывается при расчете. Еще одной проблемой становится ложноположительная классификация сперматозоидов как подвижных, это связано с передачей кинетического импульса от близлежащего активного жгутика. Для того, чтобы CASA смог занять место основного диагностического инструмента, необходимо преодолеть перечисленные проблемы.

Перспективы развития метода

Одним из перспективных направлений развития метода для систем компьютерного анализа эякулята является оценка подвижности жгутика и его волновой формы. На сегодняшний день, как уже было отмечено, в основе исследования подвижности лежит отслеживание головки сперматозоида, хотя основным движущим элементом является хвостик клетки. Согласно [3], анализ формы волны жгутика позволит оценить вязкость спермы. Данный параметр значимо влияет на подвижность, а следовательно, и на способность сперматозоидов к оплодотворению. Этот параметр трудно оценить иными методами. Кроме того, отслеживание жгутиков даст воз-

можность исследовать метаболические потребности сперматозоидов человека. Таким образом, возможность изучения формы волны жгутика с помощью компьютерного анализа позволит расширить объем диагностического обследования мужчины.

Существуют предпосылки для использования системы CASA для отбора индивидуальных гамет при ИКСИ. Разработаны программное обеспечение и технология автоматического измерения и переключения увеличения микроскопа, которые позволили применить систему CASA для отбора сперматозоидов [12]. После оценки при 20-кратном увеличении с помощью компьютерного анализа клетка с лучшими кинетическими параметрами запоминается системой и происходит переключение увеличения на 100-кратное в проекции, где должен оказаться отмеченный сперматозоид. После этого оцениваются морфологические параметры сперматозоида, и оператор принимает решение о заборе данной клетки для ИКСИ. Авторы отмечают значительную скорость данного отбора – около 6 секунд, в то время как ручное исследование занимает не менее 2-х минут.

Получены свидетельства возможной корреляции параметров CASA с уровнем ДНК-фрагментации сперматозоидов [10,13]. Обнаружена обратная связь VAP, VCL, VSL, LIN и ALH с фрагментацией ДНК сперматозоидов. Если данные предположения подтвердятся, то кинетические параметры CASA могут быть использованы в качестве прогностических критериев дефектов ДНК гамет.

Заключение

Компьютерный анализ (CASA) является одним из главных инструментов в диагностике мужского бесплодия. Этому способствуют объективность, репрезентативность и высокая скорость исследования, большое число исследуемых параметров, автоматическая фиксация данных, короткое время обучения персонала, возможность оценки гиперактивации сперматозоидов, CASA может стать также ценным в поиске антиспермальных антител, оценке ДНК-фрагментации, облегчить и улучшить отбор сперматозоида для программы ИКСИ, поможет оценить эффективность лечения бесплодия.

Сведения об авторах статьи:

Галимов Шамиль Нариманович – д.м.н., профессор, завкафедрой биохимии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: sngalim@mail.ru.

Громенко Иван Дмитриевич – ассистент кафедры биохимии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: z28ivan@mail.ru.

Галимов Камил Шамилович – ординатор ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). Адрес: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8. E-mail: kamil 9819@mail.ru.

Громенко Регина Ильдаровна – ассистент кафедры акушерства и гинекологии №1 ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: reginagromenko@mail.ru.

Громенко Дарья Дмитриевна – студент лечебного факультета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: dasha.gromenko@mail.ru.

Муратов Эмиль Марселевич – ординатор МНИОИ им. П.А. Герцена Минздрава России. Адрес: 125284, Москва, 2-ой Боткинский пр., 3.

Литвицкий Петр Францевич – член-корр. РАН, д.м.н., профессор, завкафедрой патофизиологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). Адрес: 119991, г. Москва, Россия, ул. Трубецкая, 8. E-mail: litvicki@mma.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gallagher M., Smith D., Kirkman-Brown J. CASA: tracking the past and plotting the future. *Reprod. Fertil. Dev.* 2018. - 30:867. – P. 874.
2. Галимов Ш.Н., Божедомов В.А., Галимова Э.Ф., Павлов В.Н., Сухих Г.Т. Мужское бесплодие: молекулярные и иммунологические аспекты. – М., Изд-во. – 2020. – С.
3. Finelli R., Leisegang K., Tumallapalli S. [et al.] The validity and reliability of computer-aided semen analyzers in performing semen analysis: a systematic review. *Transl. Androl. Urol.* 2021;10(7):3069-3079.
4. Schubert B., Badiou M., Force A. Computer-aided sperm analysis, the new key player in routine sperm assessment. *Andrologia.* 2019;51(10):e13417.
5. Dearing C., Jayasena C., Lindsay K. Can the Sperm Class Analyser CASA-Mot system for human sperm motility analysis reduce imprecision and operator subjectivity and improve semen analysis? *Hum. Fertil.* 2021;24(3):208-218.
6. Tomlinson M., Naem A. CASA in the medical laboratory: CASA in diagnostic andrology and assisted conception. *Reprod. Fertil. Dev.* 2018;30(6):850-859.
7. Галимова Э.Ф. Мужская фертильность: модифицируемые и немодифицируемые факторы риска / Э.Ф. Галимова, Ш.Н. Галимов // Проблемы репродукции. – 2015. – №21(5). – С. 89-95.
8. Tanga B., Qamar A., Raza S. [et al.] Semen evaluation: methodological advancements in sperm quality-specific fertility assessment - A review. *Anim. Biosci.* 2021;34(8):1253-1270.
9. Dcunha R., Hussein R., Ananda H. [et al.] Current Insights and Latest Updates in Sperm Motility and Associated Applications in Assisted Reproduction. *Reprod. Sci.* 2022;29(1):7-25.
10. Aghazarian A., Huf W., Pflüger H. Standard Semen Parameters vs. Sperm Kinematics to Predict Sperm DNA Damage. *World J. Mens Health.* 2021;39(1):116-122.
11. Yeste M., Bonet S., Rodríguez-Gil J. [et al.] Evaluation of sperm motility with CASA-Mot: which factors may influence our measurements? *Reprod. Fertil. Dev.* 2018;30(6):789-798.
12. Dai C., Zhang Z., Jahangiri S. [et al.] Automated motility and morphology measurement of live spermatozoa. *Andrology.* 2021;9(4):1205-1213.
13. Lin H., Wu M., Wu W. [et al.] Incorporating sperm DNA fragmentation index with computer-assisted semen morphokinematic parameters as a better window to male fertility. *Chin. J. Physiol.* 2022;65(3):143-150.

REFERENCES

1. Gallaxer M., Smit D., Kirkman-Braun Дж. CASA: отслеживание прошлого и планирование будущего. *Reprod. Fertil. Dev.* – 2018. – 30:867. – P. 874.
2. Галимов Ш.Н. Мужское бесплодие: молекулярные и иммунологические аспекты / Ш.Н. Галимов, В.А. Божедомов, Э.Ф. Галимова, В.Н. Павлов, Г.Т. Сухих. – М., 2020. – С.
3. Finelli R., Leisegang K., Tumallapalli S. [et al.] Валидность и надежность компьютерных анализаторов спермы при проведении анализа спермы: систематический обзор. *Transl. Androl. Urol.* 2021;10(7):3069-3079.
4. Шуберт Б. Компьютерный анализ спермы – новый ключевой игрок в рутинной оценке спермы / Б. Шуберт, М. Бадью, А. Форс. *Andrologia.* – 2019. – №51(10). – e13417.
5. Dearing C. Может ли система Sperm Class Analyser CASA-Mot для анализа подвижности сперматозоидов человека уменьшить неточность и субъективность оператора и улучшить анализ спермы? / С. Dearing, C. Jayasena, K. Lindsay *Hum. Fertil.* – 2021. – №24(3). – С. 208-218.
6. Tomlinson M., Naem A. CASA в медицинской лаборатории: CASA в диагностической андрологии и вспомогательном зачатии. *Reprod. Fertil. Dev.* 2018;30(6):850-859.
7. Галимова Э.Ф., Галимов Ш.Н. Мужская фертильность: модифицированные и немодифицированные факторы риска. Проблемы репродукции. 2015;21(5):89-95.
8. Tanga B., Qamar A., Raza S. [et al.] Оценка спермы: методологические достижения в оценке качества спермы для определения фертильности - Обзор. *Anim. Biosci.* 2021;34(8):1253-1270.
9. Dcunha R., Hussein R., Ananda H. [et al.] Current Insights and Latest Updates in Sperm Motility and Associated Applications in Assisted Reproduction. *Reprod. Sci.* 2022;29(1):7-25.
10. Aghazarian A., Huf W., Pflüger H. Standard Semen Parameters vs. Sperm Kinematics to Predict Sperm DNA Damage. *World J. Mens Health.* 2021;39(1):116-122.
11. Yeste M., Bonet S., Rodríguez-Gil J. [et al.] Оценка подвижности сперматозоидов с помощью CASA-Mot: какие факторы могут влиять на наши измерения? *Reprod. Fertil. Dev.* 2018;30(6):789-798.
12. Dai C., Zhang Z., Jahangiri S. [et al.] Автоматизированное измерение подвижности и морфологии живых сперматозоидов. *Андрология.* 2021;9(4):1205-1213.
13. Lin H., Wu M., Wu W. [et al.] Incorporating sperm DNA fragmentation index with computer-assisted semen morphokinematic parameters as a better window to male fertility. *Chin. J. Physiol.* 2022;65(3):143-150.