

На правах рукописи

Мурский Сергей Иванович

**РОЛЬ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СПЕРМАЛЬНОЙ ПЛАЗМЫ
В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ
РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У МУЖЧИН**

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

Научный руководитель:

Гусякова Оксана Анатольевна - доктор медицинских наук, доцент.

Официальные оппоненты:

Николаев Александр Аркадьевич - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра химии, заведующий;

Корнеев Игорь Алексеевич - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра урологии, профессор

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «29» декабря 2020 г. в 14:30 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, дом 54 и на сайте <https://nrcerm.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Общепринятые методы лабораторной диагностики мужского бесплодия на настоящий момент представлены в большей степени морфологическим направлением: ведущими показателями, отражающими оплодотворяющую способность спермы, считаются концентрация сперматозоидов, подвижность и содержание сперматозоидов нормальной морфологии (WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen. Fifth edition. World Health Organization, 2010; Брагина Е.Е. и др., 2013, 2014). Спермограмма представляет собой самый простой вид исследования сперматозоидов, но, к сожалению, дает неполную информацию о возможных нарушениях сперматогенеза (Guzick D.S. et al., 2004, Попова А.Ю. и др., 2015; Garolla A. et.al, 2018).

Мужское бесплодие имеет мультифакториальный генез. Играть роль социальные, демографические, а также экологические факторы (Неймарк А.И. и др., 2013). Это предопределяет сложность патогенеза, создает объективные трудности в диагностике. В связи с этим актуален поиск возможных причин патоспермии – нарушения выработки и созревания сперматозоидов в виде уменьшения их числа, снижения подвижности или появления большого количества патологических форм.

Ограничение применения биохимических исследований эякулята связано с недостаточной разработанностью методологии исследования данной биологической жидкости: отсутствует единый преаналитический стандарт, методики не валидированы. При этом, по оценкам отечественных специалистов, демографическая ситуация характеризуется снижением рождаемости, и эта тенденция сохранится на протяжении многих лет. Доля бесплодных пар в РФ выше критического уровня, установленного Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) для простого воспроизводства, равного 15%. По данным Центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова, в стране насчитывается более 4 млн. бесплодных браков, что составляет 17% от их общего числа (Сухих Г.Т. и др., 2009; Щеплев П.А., 2012; Евдокимов В.В. и др., 2015). Частота «мужского» фактора семейного бесплодия только за последние 20 лет достигла критического для популяционной репродукции показателя в 15% (Choy J.T. et al., 2012; Rouchou V., 2013; Тюзиков и др., 2013; Aksglaede L. et al., 2018). При существующих подходах к диагностике мужского бесплодия не удается выявить его причины в 44-70% случаев. Лечащий врач вынужден констатировать идиопатическую форму бесплодия, т.е. причина патоспермии остается неясной (Jungwirth A. et al., 2013; Тюзиков И.А. и др., 2013; Павлов В.Н. и др., 2016; Почерников Д.Г., 2018).

Мужчины с неуточненным бесплодием обречены на длительные и бесперспективные курсы хаотичной эмпирической терапии, которая не только не решает проблему в корне, но и существенно затягивает длительность периода инфертильности, являющегося одним из ключевых прогностических факторов бесплодного брака. Разработка на основании клиничко-лабораторных

исследований теоретической базы для поисковых диагностических программ по решению проблемы мужского бесплодия представляется крайне востребованной.

Установление предела колебаний биохимических параметров спермальной плазмы, их нормального разброса для эякулята с различным содержанием сперматозоидов позволит определить диагностическую информативность лабораторных тестов, уточнить качественные и количественные характеристики нарушений при патологии сперматогенеза.

Степень разработанности темы исследования. Метаболические характеристики спермальной плазмы, обеспечивающей жизнеспособность сперматозоидов, изучены фрагментарно: в литературе имеются сведения о связи биохимических параметров эякулята с характеристиками сперматозоидов (Евдокимов В.В. и др., 2016; Зобова А.В. и др., 2015; Чернобровкина Т.В. и др., 2015; Галимов Ш.Н. и др., 2012; Rui-Xiang Feng et al., 2015; Kumar S. et al., 2012), однако спектр изученных компонентов ограничен.

Недостаточно описаны в литературе особенности биохимических показателей при различных физиологических и патологических ситуациях состояния сперматогенеза, отсутствуют сведения о биологической вариации компонентов спермальной плазмы, что связано с огромным «разбросом» диапазона нормы по количеству содержания сперматозоидов в единице объема.

Кроме того, не установлены как происхождение целого ряда компонентов спермальной плазмы, так и особенности функционирования гематотестикулярного барьера. Практически отсутствуют данные о соотношении метаболитов спермальной плазмы и плазмы крови, параллельное изучение которых, безусловно, представляет интерес.

Цель исследования: определить аналитические возможности биохимических методик для исследования спермальной плазмы с последующей оценкой клиничко-лабораторной значимости биохимического состава спермальной плазмы при нарушении репродуктивной функции у мужчин.

Задачи исследования:

1. Определить аналитические характеристики биохимических методик исследования спермальной плазмы.
2. Выявить группу риска развития патоспермии среди фертильных мужчин на основе биохимических и морфологических исследований эякулята.
3. Провести сравнительную оценку параметров белкового, углеводного, липидного, минерального обменов в спермальной плазме и сыворотке крови при криптозооспермии, олигоастенотератозооспермии, азооспермии.
4. Выявить биохимические маркеры, соответствующие отдельным формам патоспермии, а также их возможные дифференциально-диагностические критерии с применением гемато-спермального коэффициента.
5. Разработать дифференциально-диагностический алгоритм ведения пациентов с мужским фактором бесплодия в центрах вспомогательных репродуктивных технологий.

Научная новизна. Впервые проведена комплексная оценка возможности применения 35 биохимических и иммунохимических параметров для тестирования образцов спермальной плазмы на основе валидации линейности,

прецизионности, правильности и аналитической специфичности, а также верификации спецификации производителя по точности с помощью авторских программ для ЭВМ. Установлены ограничения применения методик определения в спермальной плазме альфа-1-антитрипсина и трансферрина, предложены корректирующие мероприятия для определения гамма-глутамилтрансферазы, креатинфосфокиназы, лактатдегидрогеназы, гидроксibuтиратдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, кальция, фосфора, магния, ферритина и витамина В12.

Получены данные о биологической вариабельности метаболитов и активности ферментов в спермальной плазме в зависимости от количества сперматозоидов в единице объема. Впервые проведен сравнительный анализ состояния отдельных видов обмена в спермальной плазме и периферической крови, рассчитан гемато-спермальный коэффициент, установлены закономерности его изменения. Выявлена группа риска развития патоспермии среди фертильных мужчин.

Установлены ранее не известные факты о содержании метаболитов и ферментов в спермальной плазме и сыворотке крови при различных видах морфо-функциональных отклонений сперматогенеза: олигоастенотератозооспермии, азооспермии, криптозооспермии.

Предложены новые биохимические градации для оценки прогрессирования состояния патоспермии и дифференциации разных ее видов. Впервые дана характеристика спермальной плазмы и сперматозоидов с помощью программы «Оценка метаболических и структурных нарушений эякулята» в зависимости от содержания сперматозоидов в единице объема.

Теоретическая и практическая значимость работы. Показана диагностическая значимость определения общего белка спермальной плазмы в качестве вспомогательного дифференциально-диагностического критерия криптозооспермии и азооспермии, что может быть использовано в центрах вспомогательных репродуктивных технологий при выборе источника генетического материала.

Предложен новый диагностический алгоритм для центров, занимающихся репродуктивным здоровьем граждан в рамках новых программ репродуктивной медицины с учетом индивидуализации исследования эякулята для наблюдения за группой риска развития патоспермии и динамикой состояния патоспермии.

Применение дополнительно к морфологическому исследованию эякулята биохимического исследования активности креатинфосфокиназы в спермальной плазме позволит мониторировать течение патоспермии, выступая объективным критерием подверженности терапии.

Предложенные регрессионные модели установления источников происхождения компонентов спермальной плазмы выявляют особенности их формирования в норме и патологии, что может внести вклад в раскрытие неизвестных этиопатогенетических механизмов идиопатических форм мужского бесплодия.

Методология и методы исследования. Методологической основой диссертационной работы явилось последовательное применение общенаучных (теоретико-эмпирических) и специальных методов научного познания. Работа

выполнена в дизайне сравнительного экспериментального и клинического исследования с использованием клиничко-лабораторных биохимических, иммунохимических и статистических методов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Биохимические методики исследования аналитов в сыворотке крови применимы для исследований спермальной плазмы и могут использоваться в комплексе с традиционным морфологическим исследованием эякулята, увеличивая диагностические возможности оценки состояния мужской репродуктивной системы.

2. Биологическая вариабельность биохимических показателей спермальной плазмы при нормоспермии связана с количеством сперматозоидов в единице объема и может быть использована для установления лиц группы риска по развитию патоспермии.

3. Характер изменений биохимических показателей при олигоастенотератозооспермии, криптозооспермии, азооспермии позволяет использовать новые диагностические маркеры патоспермии для дифференцировки ее разновидностей с применением разработанного алгоритма ведения пациентов с мужским фактором бесплодия в центрах вспомогательных репродуктивных технологий.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности полученных результатов определяется достаточной выборкой обследованных (334 пациента), адекватными методами исследования и корректными методами статистической обработки. Основные подборки клинического материала формировались в одинаковых условиях. Пробы пациентов исследовались на анонимной основе (преимущественно из остатков биоматериала после проведенных клиничко-лабораторных исследований); участие добровольцев в исследовании подтверждалось их письменным согласием.

Апробация и внедрение

Результаты исследований были представлены на научно-практической конференции «Лабораторная медицина в свете концепции развития здравоохранения России до 2020 года» (Москва, 2009), Российской конференции «Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии» (Челябинск, 2009), XV форуме «Национальные дни лабораторной медицины» (Москва, 2010), научно-практической конференции «Лабораторная наука – практика: первое достижение XXI века», научно-практической конференции «Обеспечение доступности современных клинических лабораторных исследований: аналитические возможности, клинические лабораторно организационно-экономические условия» (Москва, 2011), Общероссийской научно-практической конференции с международным участием «Эффективная лабораторная медицина: методы и средства анализа, способы организации и стандарты практики», Аспирантских чтений – 2016 «Молодые учёные – от технологий XXI века к практическому здравоохранению» (Самара, 2016), IV, V Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2018, 2019).

Публикации по результатам исследования. По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, включая 4 статьи в рецензируемых научных

изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований, получено 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Личный вклад автора. Диссертантом самостоятельно проведен сбор и анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, лично проведены измерения лабораторных показателей и статистическая обработка результатов исследований, написан текст диссертации, подготовлены публикации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Тема работы, использованные методы и материалы, полученные результаты и их обсуждение, выводы и практические рекомендации соответствуют паспорту специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика (пункты 2, 7, 8).

Внедрение результатов в практику. Результаты исследований используются в работе клинико-диагностических лабораторий Клиник Самарского государственного медицинского университета, Тольяттинской городской клинической больницы № 5. Результаты проведенного исследования включены в программу практических занятий и лекционного курса для студентов, ординаторов и врачей клинической лабораторной диагностики на кафедре фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной описанию материала и методов исследования, трех глав собственных данных, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация изложена на 197 страницах машинописного текста, иллюстрирована 28 таблицами и 24 рисунками. Список литературы содержит 239 источников, из них 56 отечественных и 183 – зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось на базе клинико-диагностической лаборатории Клиник Самарского государственного медицинского университета, государственного бюджетного учреждения здравоохранения Самарской области «Тольяттинская городская клиническая больница № 5», независимой лаборатории ООО «Инвитро».

Под наблюдением находились 334 мужчины в возрасте от 21 до 38 лет, 217 человек составили контрольную группу.

Критериями исключения из исследования были: наличие заболеваний, передаваемых половым путем (ПЦР на наличие гонореи, хламидиоза, трихомониоза, микоплазмоза, гепатита С); выявление диагностического уровня антител к ВИЧ, возбудителю сифилиса, гепатиту В; наличие неспецифических воспалительных заболеваний и аномалий развития органов мочеполового тракта; хроническая патология внутренних органов; прием гормональных препаратов; уровень простата-специфического антигена выше 4,0 нг/мл (Рисунок 1).

Все пациенты контрольной группы имели детей.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

В семьях группы пациентов, обследованных по поводу бесплодия, женская причина бесплодия была исключена, так же как и наличие антиспермальных антител у супружеской пары и HLA-совместимости. Для исключения

генетических аномалий всем пациентам проводилось кариотипирование соматических клеток крови.

Материалом для исследования служили эякулят, спермоплазма, сыворотка крови, плазма крови и цельная кровь. Спермограмма выполнена по методикам, и ее параметры оценены в соответствии с критериями Руководства ВОЗ 2010 года, 5-е издание, по исследованию и обработке эякулята человека на аппарате «Биола» (Россия). Биохимические исследования проводили на автоматическом биохимическом анализаторе «Cobas Integra 400+», иммунохимическом анализаторе Cobas e411 фирмы «Roche-Diagnostics» (Швейцария) с помощью коммерческих наборов реактивов фирмы «Roche-Diagnostics» (Швейцария, Германия).

Кариотипирование клеток крови проводили на препаратах метафазных хромосом при помощи световой микроскопии (Nicon) и системы обработки изображений Видео Тест-Карио 2.1 (Россия). Статистический анализ данных проводили с помощью программы SPSS 21.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения вопросов приемлемости исследований образцов спермальной плазмы на тест-системах, рассчитанных на другие биологические материалы (чаще всего сыворотку или плазму крови), руководствовались ГОСТ Р ИСО 15189-2015 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности». Согласно нормативным документам проведена валидация: линейности (рабочий диапазон): был использован протокол CLSI EP6-A; прецизионности: использован протокол CLSI EP5-A2; правильности: использован протокол CLSI EP9-A2; аналитической специфичности: использованы протоколы: ГОСТ Р 51352-2013.

Кроме того, проведена верификация спецификации производителя по прецизионности. Обобщенные данные представлены в Таблице 1.

Таким образом, диапазоны линейности для биохимических и иммунохимических методик оказались отличными от данных линейности по сыворотке крови, однако приемлемыми для всех аналитов, кроме альфа-1-антитрипсина и трансферрина.

Внутрисерийная воспроизводимость продемонстрировала результаты в диапазоне допустимых значений. При сигмаметрической оценке величин прецизионности путем сравнения их со стандартами качества Приказа МЗ РФ № 220 все аналитические системы и реагенты продемонстрировали приемлемую аналитическую эффективность для всех оцениваемых тестов.

Мировой уровень приемлемости ($\text{Sigma} \geq 6$) показали тесты: АЛАТ, АСАТ, Амилаза, мочевины, креатинин, ГГТ, ЛДГ (IFCC), ЛДГ (OPT), фосфор, мочевины, липаза, железо, лактат, ферритин, витамин Д, КФК, фолиевая кислота.

Превосходный уровень приемлемости ($\text{Sigma} > 5 < 6$) продемонстрировал Холестерин ЛПНП.

Таблица 1 – Валидирующие мероприятия для тестирования спермальной плазмы

Тест	Диапазон измерения	CV _{BC} ,%	CV,%	Sigma	Пропорц ошибка, %	B,% 1 уровень	B,% 2 уровень
	CLSI EP6- A	Приказ №45 МЗРФ	CLSI EP-5A2		ГОСТ Р 51352- 2013	CLSI EP-15A3	
	Образцы пациентов (спермоплазма)					Референсный материал (ФСВОК/EQAS) (на основе сыворотки)	
Общий белок, г/л	2,0-60,0	0,8	2,09	4,77	3,0	0,4	-0,7
Альбумин, г/л	1,5-12,0	0,8	2,34	4,53	2,0	0,86	2,33
АЛАТ, Е/л	2,0-200,0	1,8	3,93	10,11	7,7	0,35	5,55
АСАТ, Е/л	1,8-600,0	0,4	4,09	6,47	9,3	-11,7	2,6
ГГТ, Е/л	18,0-1200	1,8	2,28	13,82	6,6	14	16,6
КФК, Е/л	5,0-2000,0	1,0	4,03	13,17	5,9	-1,9	2,3
СРБ NS, мг/л	0,20-1,00	3,0	4,65	12,18	9,9	-13,3	-15,3
α1антитрипсин, г/л		4,0	3,06	4,22	4,9		
Мочевина, ммоль/л	2-20	1,0	2,15	12,33	2,3	6,3	4,7
Креатинин, мкмоль/л	18-1300	1,6	3,40	6,36	7,2	-7	-12,8
Мочевая кислота, мкмоль/л	11,9-1200,0	4,0	3,49	6,18	3,9	12,1	16,3
Триглицериды, ммоль/л	0,1-1,00	1,5	8,54	4,66	5,0	-4,8	-3,3
Холестерин, ммоль/л	0,1-3,00	0,7	4,0	4,91	1,9	-2,3	-0,6
Холестерин ЛПВП, ммоль/л	0,08-0,70	0,7	3,56	4,00	2,8	-1,88	-3,16
Холестерин ЛПНП, ммоль/л	0,1-2,30	1,5	3,51	5,11	5,6	1,78	7,56
Липаза, Е/л	0-300	1,8	2,56	15,26	8,7	0,86	3,58
Глюкоза, ммоль/л	0,24-8,50	1,5	3,95	3,35	4,0	3,80	5,1
Лактат, ммоль/л	0,2-14,0	0,6	1,85	24,14	2,0	4,55	6,27
Фруктозамин, мкмоль/л	14,0-424,0	0,7	1,83	3,20	6,7		
ЛДГ реакция лактат-пируват, Е/л	10,0-1000,0	1,2	1,54	17,17	5,5		
ЛДГ реакция пируват-лактат, Е/л	27,0-1200,0	1,6	1,55	17,14	5,0	-4,2	-1,8
ГБДГ, Е/л	6,0-700,0	4,7	3,19	4,98	7,2		
Амилаза, Е/л	3,0-1612,0	2,0	2,56	12,29	3,4	-0,6	-6,9
Калий, ммоль/л	0,2-30,0	0,6	2,78	3,81	0,0	7,6	6,0
Натрий, ммоль/л	20,0-183,0	0,5	1,46	3,28	0,0	0,3	-2,7
Хлориды, ммоль/л	20,0-133,0	0,7	2,53	3,14	0,0	2,4	-1,3
Кальций, ммоль/л	0.20□5.0	0,4	2,23	3,56	1,2	-1,0	0,9
Фосфор, ммоль/л	0,1-6,46	1,0	2,5	7,31	2,6	-3,6	-5,6
Магний, ммоль/л	0,50 - 11,0	0,8	4,52	3,52	4,0	0,9	0,1
Железо, мкмоль/л	0,6-14,9	1,3	1,43	18,50	6,1	1,7	-1,5
Ферритин, мкг/л	10,0-500,0	1,5	3,40	6,36	5,2	3,0	17,1
Трансферрин, г/л	0,01-0,02	4,1	1,52	2,50	3,4	4,6	0,7
ЩФ, Е/л	3,0-1200,0	0,6	5,15	6,12	7,8	7,6	12,1
Фолиевая кислота, нг/мл	0,6-25,0	1,7	3,49	14,17	4,0	22,0	
25-ОН Витамин Д, нг/мл	3,00-13,76	1,3	1,8	9,09	2,2	10,0	
Витамин В12, пмоль/л	30,0-1500,0	3,8	2,09	4,77	1,9	3,04	3,2

Хороший уровень ($\text{Sigma} \geq 4 \leq 5$) продемонстрировали тесты: альбумин, холестерин общий, триглицериды, общий белок, $\alpha 1$ -антитрипсин, холестерин ЛПВП, витамин В12, гидроксibuтиратдегидрогеназа.

Следующие тесты показали пограничный уровень приемлемости ($\text{Sigma} \geq 3 \leq 4$): кальций общий, калий, натрий, хлориды, глюкоза, фруктозамин, магний.

Валидация правильности аналитических методов и систем установила, что величина смещения для всех тестов находится в пределах допустимых значений.

Аналитическая специфичность проверялась тестом на «открытие»: процент открытия составлял 90-100%, что соответствует требованиям ГОСТа. Верификация спецификации производителя по прецизионности также продемонстрировала допустимость применения тест-систем для работы с новым биологическим образцом.

В проведенном исследовании далее поэтапно проанализирована биологическая вариабельность аналитов спермальной плазмы, сопряженная с количеством сперматозоидов в единице объема. Проведено также математическое моделирование вероятности происхождения компонентов спермальной плазмы, сопоставлены наблюдения в группе нормозооспермии с группой патоспермии.

При сопоставлении биохимических показателей спермальной плазмы у обследуемых лиц с нормозооспермией с количеством сперматозоидов менее 50 млн/мл обращает на себя внимание отклонение от генеральной совокупности (Рисунок 2) активности АСАТ (-28,2%), ЛДГ (-48,1%), ГБДГ (-57,2%), амилазы (-9,6%), уровней магния (-40,3%), фолиевой кислоты (-27,1%) в сторону снижения; концентрации триглицеридов (+20,4%), $\alpha 1$ антитрипсина (+64,7), глюкозы (+27,2%), витамина Д (+65,7%), активности ЩФ (+47,7%) – в сторону увеличения. При этом максимальное отклонение от средних значений гематоспермального коэффициента продемонстрировано для содержания общего белка (+31,1%), АСАТ (-32,1%), ХЭ (+44,9%). Однако направленность отклонений гематоспермального коэффициента в основном совпадала с направленностью отклонений показателей спермальной плазмы. Исключение составили железо (-7,2% в спермальной плазме и +34,4% коэффициент) и триглицериды (соответственно +20,4% и -7,4%).

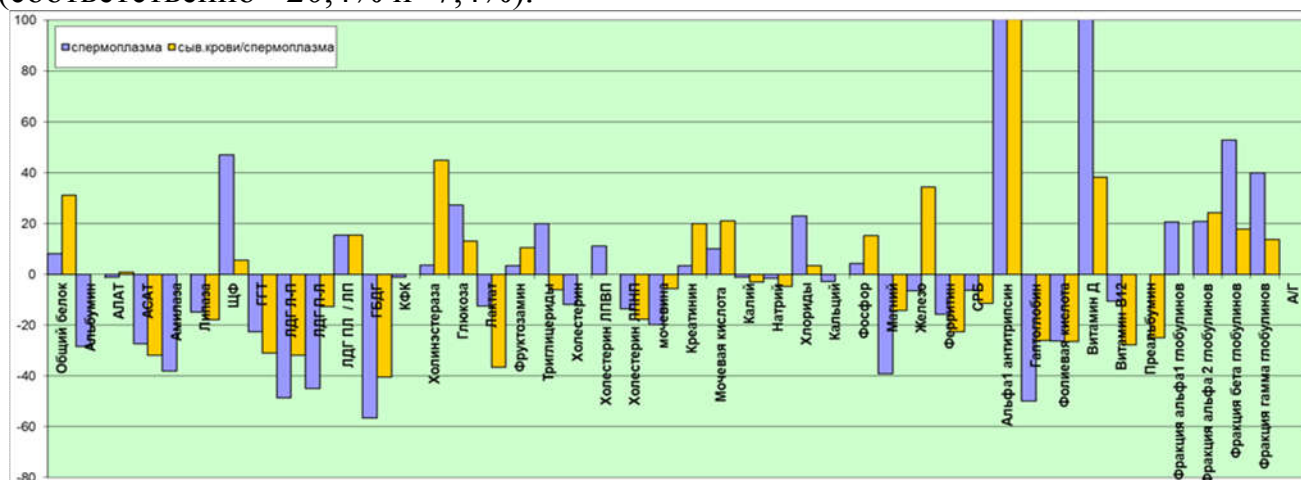


Рисунок 2 – Биохимические показатели спермальной плазмы и гематоспермального коэффициента в % отклонения от нормы у лиц с нормозооспермией с количеством сперматозоидов менее 50 млн/мл

С увеличением количества сперматозоидов эти тенденции теряли свою интенсивность (Рисунки 3, 4), и приобретались новые: увеличение активности АСАТ, амилазы (+47,3%), повышение холестерина общего (+28,4%) и ЛПВП (+35,5%), лактата (+20%), но при этом постепенное снижение глюкозы (-14,4%).

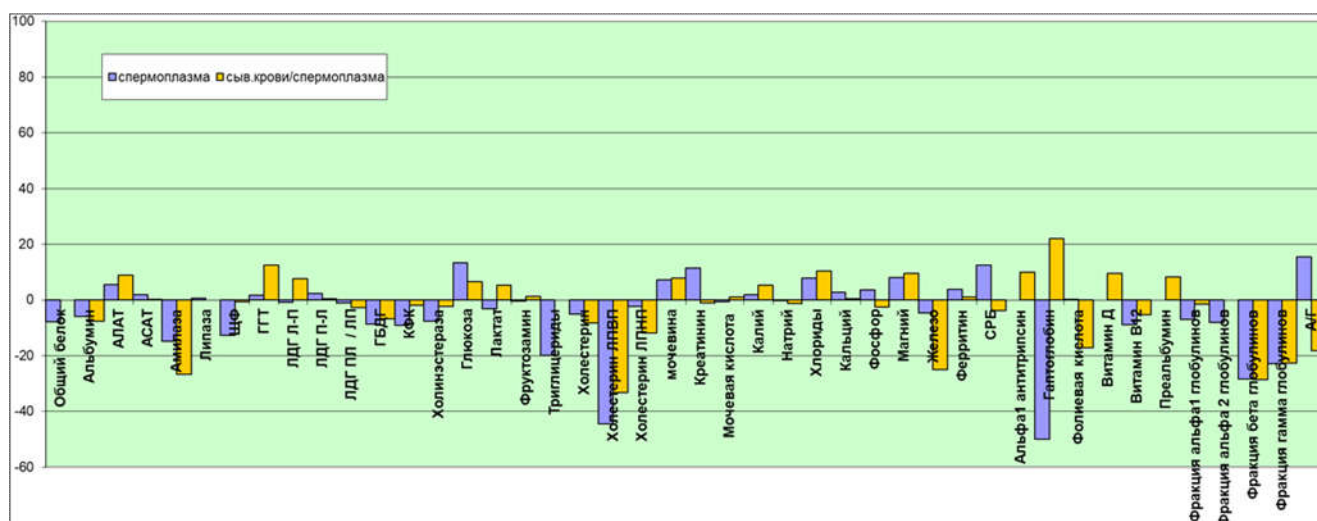


Рисунок 3 – Биохимические показатели спермальной плазмы и гематоспермального коэффициента в % отклонения от нормы у лиц с нормозооспермией с количеством сперматозоидов 50-100 млн/мл

Обращают на себя внимание достоверно увеличивающиеся с возрастанием количества сперматозоидов в 1 мл концентрации альбумина, поскольку альбумин выполняет определенную защитную функцию – «белковой оболочки» спермия, которая предохраняет его от преждевременной активации – акросомной реакции. Увеличение количества лактата, вероятнее всего, связано с повышением интенсивности потребления моносахаридов большим количеством клеток, с высокой активностью гликолитического пути образования энергии, что подтверждается параллельным с увеличением концентрации сперматозоидов нарастанием активности лактатдегидрогеназы и снижением уровня глюкозы, лактата, а также активности ферментов: АСАТ, амилазы, ГГТ, ЛДГ, ГБДГ.

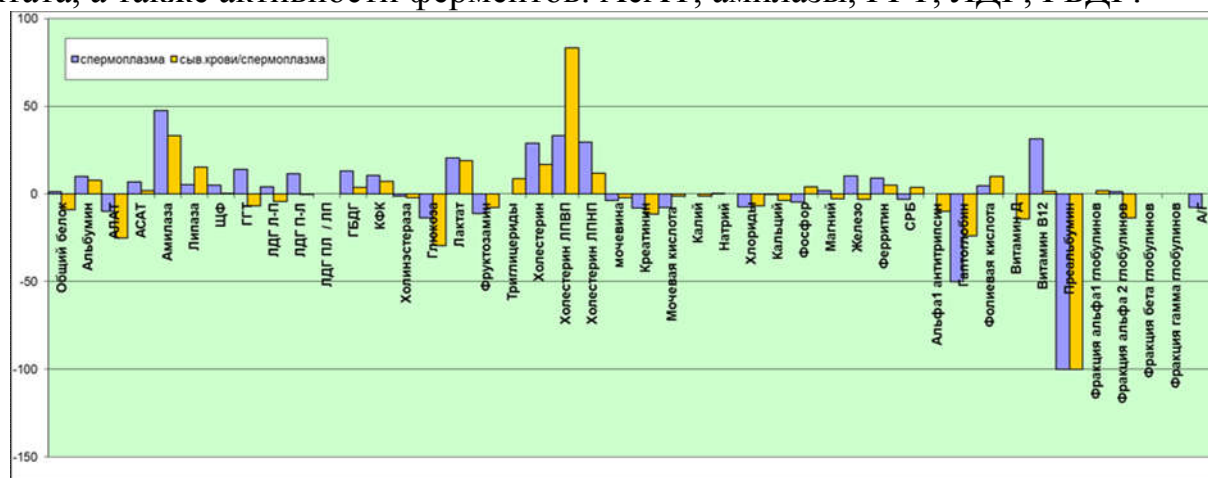


Рисунок 4 – Биохимические показатели спермальной плазмы и гематоспермального коэффициента в % отклонения от нормы у лиц с нормозооспермией с количеством сперматозоидов >100 млн/мл

При сопоставлении результатов биохимических показателей групп с разным количеством сперматозоидов между собой обращает на себя внимание наличие достоверных различий уровня альбумина (-29,8%, $p < 0,05$), АСАТ (-32,1%, $p < 0,001$), ГГТ (-32,1%, $p < 0,05$), ЛДГ(-50,5%, $p < 0,05$), ГБДГ(-61,4%, $p < 0,001$), витамина Д (+40,1%, $p < 0,001$) у лиц именно с минимальным количеством сперматозоидов относительно других групп. Исследование в тех же группах морфологических показателей эякулята установило минимальные процентные содержания всех подвижных сперматозоидов ($p < 0,001$), в том числе активноподвижных ($p < 0,001$), в группе с содержанием сперматозоидов менее 50 млн/мл, а также самое низкое количество морфологически нормальных сперматозоидов ($p < 0,05$), что может считаться неблагоприятными прогностическими моментами для развития патологических отклонений. Вышеописанные тенденции подтверждаются клиническими случаями развития олигоастенотератозооспермии у пациентов группы с исходным содержанием сперматозоидов менее 50 млн/мл, приведенными в диссертационном исследовании.

Для детализации вклада метаболических параметров в сперматогенез и реализацию морфологических вариантов нормального созревания проведен корреляционный анализ содержания ключевых параметров обмена веществ в спермальной плазме с основными параметрами морфологического исследования спермограммы (Рисунок 5).

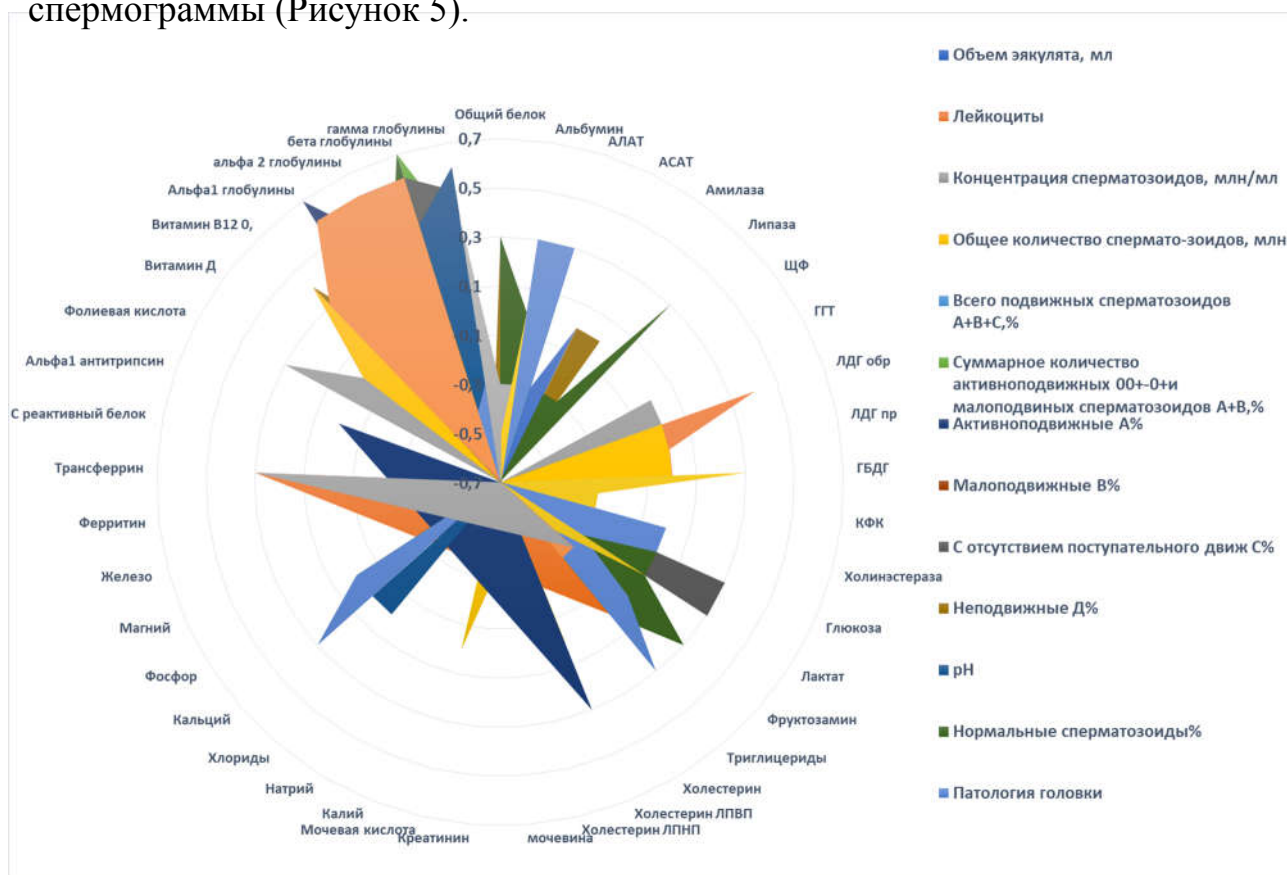


Рисунок 5 – Корреляции анализов спермальной плазмы с параметрами спермограммы

У АЛАТ установлена средней силы взаимосвязь с объемом эякулята и сильная – с количеством лейкоцитов в эякуляте, с концентрацией сперматозоидов и их общим количеством. АСАТ также слабо взаимосвязана с объемом эякулята, и взаимосвязь средней силы отмечена для общего количества сперматозоидов, причем появилась слабая отрицательная связь с малоподвижными формами мужских гамет.

Вероятнее всего, связь с объемом эякулята также отражает в какой-то части происхождение ферментов из клеток не спермального геноза: для АЛАТ – из лейкоцитов, для АСАТ – из общего количества сперматозоидов, причем в большей степени – функционально активных. Эти данные подтверждают и дисперсионный анализ зависимости от концентрации сперматозоидов – по этому критерию достоверных отличий для АЛАТ не наблюдалось, как и линейности изменения. В отличие от АСАТ, который продемонстрировал достоверные отличия в группах с разной концентрацией сперматозоидов в единице объема, АСАТ является одним из ключевых показателей биоэнергетики, который обеспечивает поступление щавелевоуксусной кислоты в энергетический котел. Поэтому закономерность связи этого фермента не просто с количеством сперматозоидов, а именно с количеством функционально активных клеток, вполне правомочна.

Обращают на себя внимание корреляции активности амилазы с особенностями морфологии сперматозоидов: положительные корреляционные связи средней силы с процентом форм с патологией шейки и слабые отрицательные – с процентом форм сперматозоидов с патологией головки. Именно амилаза обеспечивает наличие пригодных к дальнейшему преобразованию энергетических субстратов для сперматозоидов. Продукты, образующиеся в ходе гидролиза с участием альфа-амилазы, могут увеличивать щелочность среды, что необходимо для сохранения жизнеспособности сперматозоидов.

Для витамина Д выявлены отрицательные средней силы корреляционные взаимодействия с общим количеством сперматозоидов и значением рН. Данные дисперсионного анализа также подтвердили снижение концентрации витамина Д в спермальной плазме и его гемато-спермального коэффициента связаны с увеличением количества сперматозоидов в единице объема. Возможно, эти данные свидетельствуют о более интенсивном потреблении витамина Д сперматозоидами в норме. Кальцитриол контролирует пролиферацию клеток, ингибируя их излишнюю активность, способствуя улучшению дифференцировки, и играет важную роль в процессах капацитации сперматозоидов.

При сопоставлении данных биохимического тестирования спермальной плазмы при патоспермии с нормой (Рисунок 6) обращает внимание резкое падение содержания большинства субстратов и активности ферментов. При всех видах патоспермий отмечается разной степени выраженности угнетение активности: АЛАТ от -14% до -36,3%, $p < 0,05$; АСАТ от -16,1% до -60,2%, $p < 0,001$; ГГТ от -17,7% до -35,6%, $p < 0,001$; ЛДГ от -27,7% до -56,6% $p < 0,001$; ГБДГ от -38,8% до -64,2%, $p < 0,001$; КФК от -45,3% до -86,7%, $p < 0,001$; снижение содержания: лактата от -20,9% до -32,8%, $p < 0,001$; калия от -9,6% до -21%,

$p < 0,05$; кальция от $-8,4\%$ до $-20,6\%$, $p < 0,05$; магния от $-44,2\%$ до $-62,5\%$, $p < 0,001$; возрастание содержания: амилазы от $+9,5\%$ до $+37,5\%$, $p < 0,001$; фруктозамина от $+17,9\%$ до $75,3\%$, $p < 0,001$ и триглицеридов ($p < 0,001$). Установлено, что содержание триглицеридов в сперме является одним из факторов сохранения жизнеспособности сперматозоидов во внешней среде. Возможно, в данном случае включаются компенсаторные механизмы сохранения единичных носителей генетической информации.

Характер биохимических сдвигов при различных вариантах патоспермии, как правило, изменяется не параллельно усугублению патологических изменений морфологической картины исследования эякулята: так, максимальные отклонения у пациентов с криптозооспермией, которая морфологически характеризуется как промежуточное состояние. Единственным из исследованных биохимических показателей, отрицательная динамика изменений которого полностью совпадала с усугублением клинической картины, была активность КФК, которая снижалась на $45,3\%$ ($p < 0,001$) от нормы при олигоастенотератозооспермии, на $79,4\%$ ($p < 0,001$) – при криптозооспермии и на $86,8\%$ ($p < 0,001$) – при азооспермии. То есть, активность КФК может использоваться как дифференциально-диагностический и прогностический критерий снижения качества эякулята ($AUC=0,722$).

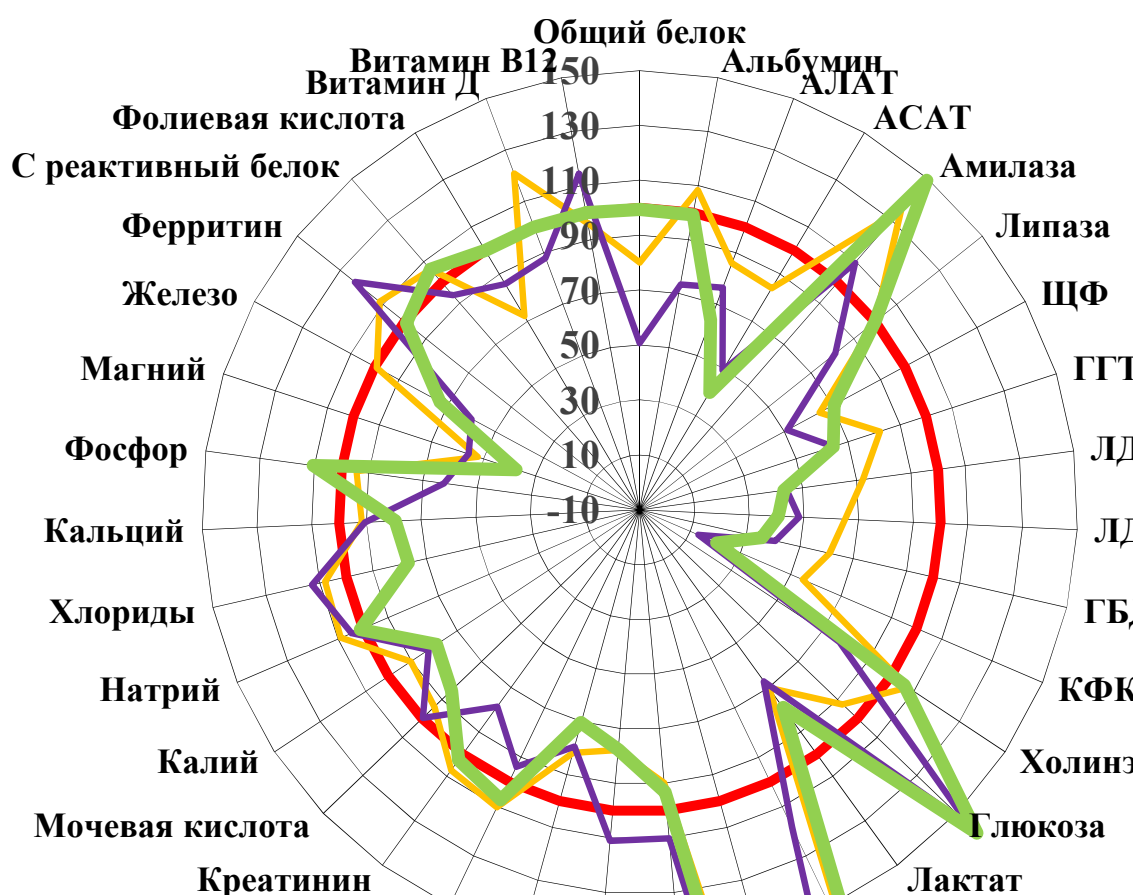


Рисунок 6 – Отклонения метаболических параметров в спермальной плазме при различных видах патоспермии

Биохимические показатели спермальной плазмы при криптоспермии характеризовались максимальными отклонениями от нормы практически по всем исследованным показателям, за исключением содержания общего белка, альбумина, лактата и активности щелочной фосфатазы. Причем именно содержание общего белка продемонстрировало достоверно значимые различия между криптозооспермией и азооспермией (49,1%, $p < 0,001$, $AUC = 0,889$), что может иметь решающее значение для проведения дифференциальной диагностики этих видов патоспермий, принципиальных для решения вопроса о возможности отцовства.

Особенностью олигоастенотератоспермии являются наименьшие из группы патоспермии отклонения биохимических показателей спермальной плазмы, снижение уровня глюкозы (-7,5%), нетипичное для криптозооспермии и азооспермии при увеличении содержания фруктозамина (+65,7%, $p < 0,001$). Интересно разнонаправленное изменение содержания альбумина – возрастающее при олигоастенотератозооспермии и снижающееся – при других патоспермиях.

Факт снижения уровня альбумина при других видах патоспермий снижает общее свойство комплексообразования, нарушает баланс между ионизированной и неионизированной формой микроэлементов, а снижение связывающей возможности альбумина из-за уменьшения его содержания может приводить и к нарушению процессов гликозилирования белков, необходимых для формирования гликопротеинов. Это косвенно подтверждает слабая положительная корреляционная связь фруктозамина с общим количеством сперматозоидов и с процентом активно-подвижных сперматозоидов.

Особенностью патоспермий стало и выявление большей значимости отклонений гемато-спермального коэффициента. В отличие от состояний нормоспермии, при которых гемато-спермальный коэффициент не продемонстрировал выраженных колебаний в зависимости от содержания сперматозоидов в единице объема, при патоспермиях отмечались более значимые отклонения этого показателя для большой группы анализов: уровня общего белка ($p < 0,05$), альбумина ($p < 0,05$), АЛАТ ($p < 0,05$), АСАТ ($p < 0,05$), амилазы ($p < 0,05$), ЛДГ ($p < 0,05$), холинэстеразы ($p < 0,05$) и триглицеридов ($p < 0,05$). При этом максимальные отклонения гемато-спермального коэффициента установлены в группе с самыми глубокими морфологическими отклонениями – при азооспермии. Величина гемато-спермальных коэффициентов для амилазы и холинэстеразы изменяется параллельно с ухудшением морфологических характеристик эякулята (от 3,14 при олигоастенотератозооспермии до 2,77 при азооспермии для амилазы и от 30,76 при азооспермии до 53,92 при олигоастенотератозооспермии для холинэстеразы).

Для поиска источников происхождения компонентов спермальной плазмы и для более глубоких исследований взаимосвязей биохимического состава спермоплазмы с особенностями клеточного состава эякулята, с его физико-химическими характеристиками, а также с биохимическими характеристиками сыворотки крови применяли множественную регрессию.

Для контроля за мультиколлинеарностью анализировали показатели VIF (variance inflation factor). Такого же рода анализ проведен и для выявления

предикторов у пациентов с патоспермией. Вычисляли коэффициенты детерминации путем возведения коэффициентов корреляции в квадрат и сопоставляли их с коэффициентами детерминации из регрессионных моделей, построенных на нормальных спермограммах.

Расчетные данные предикторов появления альбумина в спермальной плазме подчинились закономерностям, формульное выражение которых:

$$\text{Альбумин}_{\text{сперм плазмы}} = 24,94 + 0,22(\text{Альб сыв}) - 0,1(\text{сум ко-во А+В}) - 3,19\text{pH}.$$

То есть на каждый 1 грамм альбумина сыворотки альбумин спермальной плазмы возрастает на 0,22 г/л, при этом каждый 1% подвижных сперматозоидов уменьшает количество альбумина спермоплазмы на 0,1 г/л; изменение рН на 1 единицу снизит количество альбумина на 3,19 г/л. По всей видимости, альбумин происходит все же в основном из альбумина сыворотки; в большей степени он необходим для максимально жизнеспособных сперматозоидов и максимально расходуется из спермальной плазмы. Отрицательная зависимость от рН, вероятнее всего, связана с активной работой семенных пузырьков, секрет которых обладает выражено щелочным характером и при большом количестве «разбавляет» альбумин спермоплазмы.

По представленной выше формуле мы можем объяснить происхождение 77% альбумина спермальной плазмы.

Выявленные предикторы содержания альбумина при патоспермии также подтверждают значимость альбумина для обеспечения подвижности сперматозоидов:

$$\text{Альбумин}_{\text{спермальной плазмы}} = 7.63 - 0.05 (\% \text{ малоподвижных сперматозоидов}).$$

Близкими по логическому построению получились модели активности аланинаминотрансферазы и амилазы спермальной плазмы:

$$\text{АсАТ}_{\text{спер пл}} = 95,5 + 0,86(\text{концентрация сперма-в}) + 1,86(\% \text{патологич форм сперма-в}).$$

$$\text{Амилаза}_{\text{спер пл}} = 52,5 + 0,22(\text{амилаза сыв.}) + 0,54(\% \text{пат. форм сперм-в}) + 0,05(\text{конц. сперм-в})$$

Таким образом, значимый вклад в происхождение этих ферментов вносят процент патологических форм сперматозоидов и общее количество сперматозоидов, причем в большей степени – для АсАТ, к активности которой 1млн/мл добавляют 0,86 Е/л, тогда как в амилазе – всего 0,05 Е/л. В амилазе, в отличие от АсАТ, гораздо более значимый компонент – амилаза сыворотки крови – 1Е/л сывороточной амилазы дает дополнительно 0,22 Е/л спермальной. Аспаратаминотрансфераза очень активна в зрелых сперматозоидах и, возможно, патологические формы сперматозоидов обладают большей проницаемостью для этого фермента или обладают меньшей стойкостью.

В нашем исследовании установили достоверное повышение активности этого фермента в группах с разным содержанием сперматозоидов параллельно возрастанию количества сперматозоидов в единице объема. Определенный нами гемато-спермальный коэффициент прогрессивно повышался с увеличением количества сперматозоидов, что также подтверждает, скорее всего, увеличение собственного производства из репродуктивных клеток. Амилаза же спермоплазмы, напротив, в большей степени связана с амилазой сыворотки крови.

Нужно отметить, что при экстраполяции модели расчета предикторов в группе с нормоспермией на группу с патоспермией отмечена корреляция только

для двух показателей – АсАТ и ГБДГ, для всех остальных проявились новые закономерности.

Так, для амилазы при патоспермии на первый план выходит сумма подвижных сперматозоидов, причем в отрицательном значении, то есть:

$$\text{Амилаза}_{\text{сперм. пл.}} = 18.25 - 0.13 (\text{Всего подвижных сперматозоидов } A+B+C, \%).$$

Очень близки регрессионные уравнения установления предикторов ЛДГ в реакции лактат-пируват и пируват-лактат, ГГТ, ГБДГ; все они также отмечают значимый вклад сперматозоидов (в логарифмическом выражении). Вероятнее всего, это характеризует выход указанных ферментов из сперматозоидов, а в случае с ЛДГ еще и из клеток сперматогенеза:

$$\text{ГБДГ}_{\text{спер пл.}} = 1385,8 + 8,4 (\text{конц. сперм млн/мл})$$

$$\text{ГГТ}_{\text{спер пл.}} = 34474 + 30663 (\ln \text{ конц. сперм млн/мл}) - 4941,8_{\text{pH}}$$

$$\text{ЛДГ}_{\text{спер пл.}} = -1708 + 715 (\ln \text{ конц. сперм млн/мл}) + 499,7 (\text{колич. клеток сперматогенеза}).$$

ЛДГ, как и ГГТ, и ГБДГ при сравнении активности в группах с различным содержанием сперматозоидов продемонстрировали четкий тренд к параллельному возрастанию, что не сопровождалось достоверными и однонаправленными изменениями гематоспермального коэффициента.

Отрицательный вклад рН в значение ГГТ, вероятнее всего, также связан с разведением спермальной плазмы содержащим семенных пузырьков. ГГТ более чувствительна к изменению рН среды, чем имеющая комплекс различных изоферментов ЛДГ. Подтверждает описанные предположения и расчет предполагаемых предикторов лактата:

$$\text{Лактат}_{\text{спермальной плазмы}} = 5,11 + 0,078 (\% \text{ подвижных сперматозоидов}) + 0,078 (\% \text{ нормальных сперматозоидов}) + 1,49 (\text{клетки сперматогенеза}) + 0,017 (\text{концентрация сперматозоидов млн/мл}).$$

Вклад в появление лактата в спермоплазме вносят функционально и метаболически активные сперматозоиды вместе с клетками сперматогенеза.

При этом при патоспермии расчетными предикторами содержания лактата остается только процент всех подвижных сперматозоидов

$$\text{Лактат}_{\text{спермоплазмы, патоспермия}} = 2,98 + 0,11 (\text{Нормальные сперматозоиды } \%).$$

Все биохимические анализы, продемонстрировавшие биологическую вариабельность в группах с различным содержанием сперматозоидов в единице объема, подтвердили свое вероятное происхождение из сперматозоидов на регрессионных моделях. Триглицериды и амилаза спермальной плазмы, значения которых увеличиваются при патоспермии, зависят от процента разного рода подвижных форм сперматозоидов. При блоке поступления амилазы из сыворотки активноподвижные сперматозоиды вынуждены ограничиваться собственными ресурсами, что подтверждается и увеличением содержания лактата при большем проценте нормальных сперматозоидов, т.е. покрытие энергопотребления идет за счет углеводов. Триглицериды же, поступающие в норме из патологических форм сперматозоидов (возможно, из поврежденных мембран) при патоспермиях, происходят из малоподвижных форм сперматозоидов, которые, возможно, в меньшей степени используют этот субстрат для получения энергии.

В результате сопоставления всех регрессионных моделей при нормоспермии и патоспермии одна из ярко прослеживаемых закономерностей – большая «компартаментизация» спермальной плазмы с изоляцией от

сывороточных компонентов при патоспермии (в регрессионных моделях отсутствуют сывороточные источники).

Полученные данные легли в основу дифференциально-диагностического алгоритма ведения пациентов с мужским фактором бесплодия в центрах вспомогательных репродуктивных технологий (Рисунок 7).

На первом этапе проводится классическое морфологическое исследование эякулята по рекомендациям ВОЗ.

При выявленной нормозооспермии выделяются пациенты с концентрацией сперматозоидов <50 млн/мл.

Дальнейшая тактика их ведения определяется биохимическими параметрами спермальной плазмы: активность АСАТ, ЛДГ и содержание лактата.

При наличии установленных отклонений по этим показателям пациенты относятся к группе риска по олигоспермии и подлежат наблюдению в динамике с рекомендациями криоконсервации сперматозоидов для отсроченного отцовства.

При установлении олигоастенотератозооспермии рекомендуется использовать биохимические маркеры ухудшения качества эякулята: КФК спермоплазмы с выделением группы риска по астенозооспермии и гематоспермальный коэффициент амилазы с выделением группы риска по тератозооспермии. Для этих пациентов также рекомендуется наблюдение в динамике и криоконсервация сперматозоидов для отсроченного отцовства.

При установлении в ходе морфологического исследования эякулята азооспермии рекомендуется определение концентрации общего белка и активности КФК спермоплазмы. При уровне общего белка менее 22 г/л подтверждается морфологически установленная азооспермия, следовательно, для таких пациентов рекомендуется тестикулярная биопсия. При положительных результатах тестикулярной биопсии рекомендуется проведение ИКСИ (ICSI – Intra Cytoplasmic Sperm Injection). При отрицательных результатах рекомендуется использовать донорскую сперму при ВРТ. При получении значений общего белка спермоплазмы более 22 г/л и активности КФК >104 Е/л рекомендуется настойчивый поиск генетического материала с увеличением времени морфологического исследования эякулята, в том числе и после дополнительной гормональной стимуляции, так как диагноз азооспермия ставится под сомнение: в эякуляте возможно нахождение единичных сперматозоидов, что делает возможным проведение ИКСИ.

Таким образом, результаты биохимического исследования спермальной плазмы серьезно дополняют сведения спермограммы о концентрации и подвижности мужских гамет, причем с достоверно более высоким уровнем аналитической надежности, и позволяют корректировать тактику ведения пациентов с идиопатическими формами мужского бесплодия.

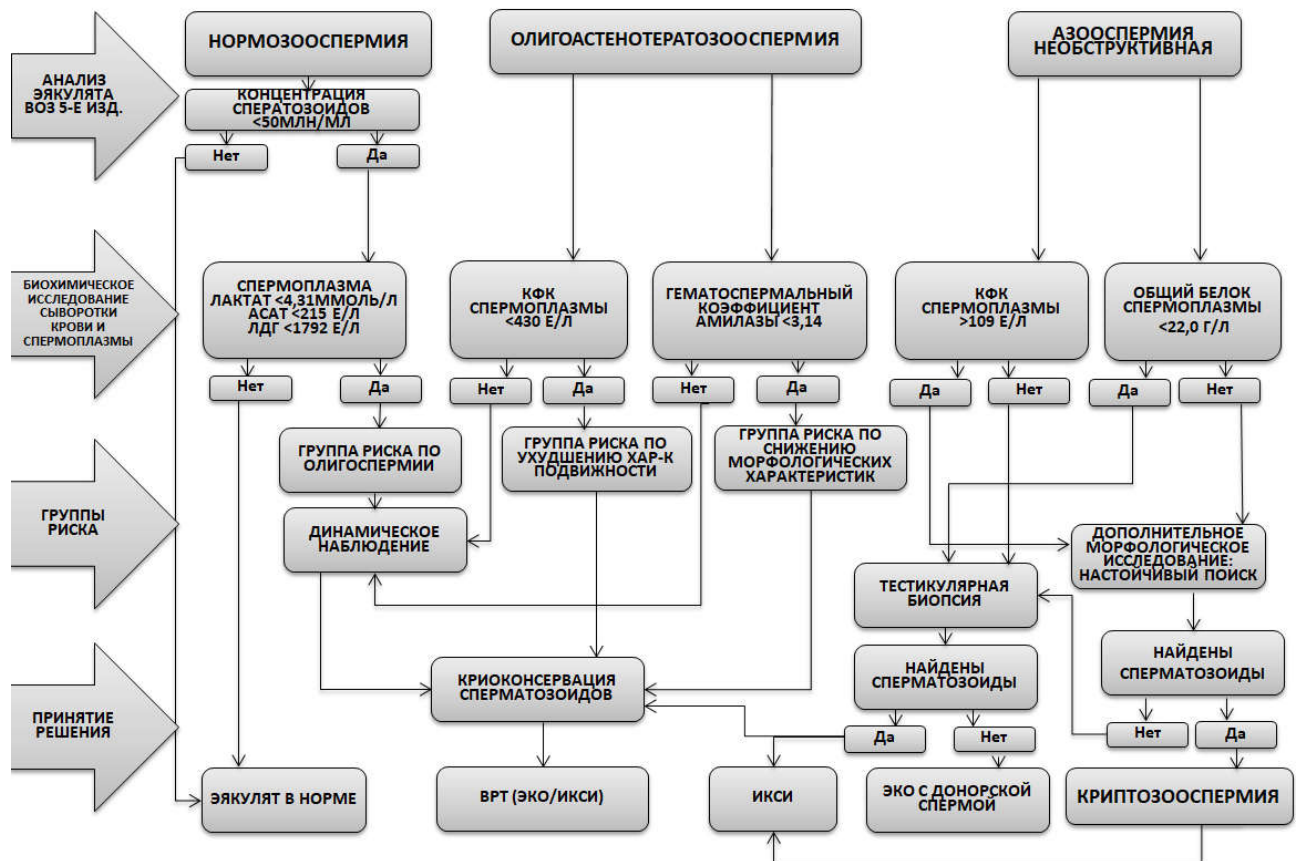


Рисунок 7 – Дифференциально-диагностический алгоритм ведения пациентов с мужским фактором бесплодия в центрах вспомогательных репродуктивных технологий

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что биохимические методики, применяемые для исследования сыворотки крови, могут быть использованы для характеристики показателей спермальной плазмы после проведения корректирующих мероприятий, основанных на результатах валидации.

2. Осуществлено изучение линейности, внутрисерийной воспроизводимости, правильности и специфичности 37 метаболитов. Для 35 метаболитов, кроме альфа-1-антитрипсина и трансферрина, методика оказалась приемлемой.

3. Выявлено, что лица с минимальным содержанием сперматозоидов в единице объема при нормоспермии являются группой риска развития патоспермии при достоверном снижении активности АСАТ, ГГТ, ЛДГ, ГДБГ в спермальной плазме.

4. Криптозооспермия характеризуется достоверным понижением активности ферментов: АСАТ, ГГТ, ЛДГ, ГДБГ, снижением содержания калия, кальция и магния, возрастанием содержания фруктозамина и триглицеридов.

5. Показано, что биохимическим предиктором ухудшения качества эякулята является снижение активности креатинфосфокиназы спермоплазмы: в

1,8 раза ниже нормы при олигоастенотератозооспермии, в 4,8 раза – при криптозооспермии и в 7,4 раза – при азооспермии.

6. Установлено, что дополнительным дифференциально-диагностическим критерием азооспермии и криптозооспермии является содержание общего белка в спермальной плазме.

7. Выявлено, что для формирования групп риска по тератозооспермии гемато-спермальный коэффициент для амилазы и холинэстеразы служит дифференциально-диагностическим критерием состояния нормо- и патоспермии относительно изолированного определения этих показателей.

8. Разработан дифференциально-диагностический алгоритм ведения пациентов с мужским фактором бесплодия в центрах вспомогательных репродуктивных технологий, который включает комбинированное использование морфологического исследования эякулята с расчетом гемато-спермальных коэффициентов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Врачам клинико-диагностических лабораторий и репродуктологам рекомендовано исследование биохимических исследований в спермальной плазме: общего белка, активности КФК, АСАТ, ГГТ, ЛДГ наряду с определением показателей клеточного состава эякулята для эффективной диагностики мужской инфертильности.

2. Разработанная «Программа для оценки метаболических и структурных нарушений эякулята» рекомендуется к использованию в работе клинико-диагностических лабораторий и центров вспомогательных репродуктивных технологий.

3. Для дифференциальной диагностики нормо- и патоспермии рекомендуется использовать гемато-спермальный коэффициент амилазы и холинэстеразы.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективной является определение референсных интервалов для биохимического исследования спермальной плазмы и их индивидуализация в различных возрастных группах, изучение биологической вариабельности параметров спермальной плазмы, связанное с носительством определенных антигенов (систем АВ0, Резус, HLA), что может послужить основой персонализированных подходов в диагностике и лечении многих патологических процессов и мужской инфертильности, в частности.

Динамическое наблюдение за лицами с нормоспермией с минимальным содержанием сперматозоидов позволит уточнить критерии выделения группы риска.

Дальнейшее изучение патобиохимических механизмов развития мужской инфертильности и работы гемато-тестикулярного барьера, в том числе и методом проверки работы регрессионных моделей содержания и активности различных

метаболитов в спермальной плазме позволит раскрыть патогенез различных нозологических форм бесплодия.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных результатов диссертационных работ

1. Мурский, С.И. Характеристика кариотипа периферической крови супружеских пар с бесплодием / Е.Н. Лаврушина, О.И. Мелешкина, О.А. Балдина, С.И. Мурский, Ф.Н. Гильмиярова // Медицинский альманах. – 2017. – № 2 (47). – С. 108-110.
2. Мурский, С.И. Метаболические характеристики спермальной плазмы с различным числом сперматозоидов / О.А. Гусякова, В.М. Радомская, С.И. Мурский, А.И. Габрильчак, Г.В. Тукманов // Лабораторная служба. – 2018. – Т. 7, № 1. – С. 15-19.
3. Мурский, С.И. Особенности метаболического состава спермальной плазмы при различных морфофункциональных патологиях эякулята / О.А. Гусякова, С.И. Мурский, Г.В. Тукманов, М.В. Комарова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – № 8. – С. 469–476.
4. Мурский С.И. О возможности использования рутинных биохимических методик для исследования альтернативных биологических жидкостей человека / С.И. Мурский // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2019. – Т. 4, № 35. – С. 54-57.

Авторские свидетельства, патенты

5. Мурский, С.И. Программа для оценки метаболических и структурных нарушений эякулята / С.И. Мурский, Ф.Н. Гильмиярова, О.А. Гусякова, О.А. Балдина, О.В. Арчибасова, Е.Е. Потякина, Н.В. Иванова // Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2018612274, 14.02.2018. Заявка № 2017663509 от 25.12.2017.
6. Мурский, С.И. Способ определения качества эякулята у мужчин по активности креатинфосфокиназы в спермальной плазме / Гусякова О.А., Гильмиярова Ф.Н., Лямин А.В., Ерещенко А.А., Козлов А.В., Халиулин А.В. // Патент на изобретение № 2 732 968. Заявка: 2020113180. Опубликовано: 25.09.2020. Бюл.№27

Статьи в научных журналах, тезисы докладов в материалах конференций и симпозиумов

7. Мурский, С.И. Оценка влияния гемолиза на результаты биохимических исследований / О.А. Гусякова, С.И. Мурский // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 9. – С. 11.

8. Мурский, С.И. Параметры метаболизма спермальной плазмы в оценке состояния мужского здоровья / С.И. Мурский, О.А. Гусякова, Т.В. Старикова // Аспирантские чтения – 2016: Материалы научно-практической конференции с международным участием «Молодые учёные – от технологий XXI века к практическому здравоохранению». – ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России. – 2016. – С. 289-291.
9. Мурский, С.И. Характеристика состава спермальной плазмы у клинически здоровых мужчин / Ю.В. Первова, О.А. Гусякова, Т.В. Старикова, С.И. Мурский, О.И. Резникова // Материалы десятой и одиннадцатой международных научно-практических конференций "высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине", сборник избранных статей – 2016.– С. 210-214.
10. Мурский, С.И. Характеристика метаболических показателей крови и спермальной плазмы в зависимости от носительства антигенов АВ0 системы / О.А. Гусякова, С.И. Мурский, Г.В. Тукманов // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2017. – № 3. – С. 60-62.
11. Мурский, С.И. Характеристика метаболического профиля спермальной плазмы при нормоспермии/ С.И. Мурский, О.И. Мелешкина, О.А. Гусякова, Ф.Н. Гильмиярова, О.Ю. Кузнецова, В.И. Кузьмичева // Материалы IV Российского конгресса лабораторной медицины. Лабораторная служба. – 2018. – Т.7. – № 3. Выпуск 2. – С. 137.