

Пичугова

Светлана Владимировна

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ, ГОРМОНАЛЬНО- МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ,  
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В  
ОЦЕНКЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ПОДРОСТКОВ ПОСЛЕ  
ВАРИКОЦЕЛЭКТОМИИ В ПУБЕРТАТНЫЙ ПЕРИОД С 14 ДО 17 ЛЕТ**

3.2.7. Иммунология

3.3.3. Патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Екатеринбург – 2024

Работа выполнена в лабораториях иммунопатофизиологии и иммунологии воспаления Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии УрО РАН (ИИФ УрО РАН).

### Научные консультанты

доктор медицинских наук, профессор,  
заслуженный врач РФ

академик РАН, доктор медицинских наук,  
профессор

**Бейкин Яков Борисович**

**Черешнев  
Валерий Александрович**

### Официальные оппоненты

Доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой педиатрии ИДПО  
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский  
государственный медицинский  
университет» Минздрава России

**Пищальников  
Александр Юрьевич**

Доктор медицинских наук, профессор,  
директор «Института экологии и  
генетики микроорганизмов» УрО РАН  
филиала ФГБУН «Пермский федеральный  
исследовательский центр» УрО РАН

**Гейн  
Сергей Владимирович**

Доктор медицинских наук, доцент,  
заведующая кафедрой патологической  
физиологии ФГБОУ ВО «Пермский  
государственный медицинский  
университет имени академика Е.А.  
Вагнера» Минздрава России

**Гуляева  
Инна Леонидовна**

**Ведущая организация:** ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург).

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.063.01 на базе ФГБУН Института иммунологии и физиологии УрО РАН по адресу: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН по адресу: 620041, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской/Академическая, 22/20 и на сайте ИИФ УрО РАН (<http://iip.uran.ru>), с авторефератом – там же и на сайте ВАК РФ (<http://vak2.ed.gov.ru>).

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ 2024 г.

Ученый секретарь Совета 24.1.063.01  
на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН,  
кандидат биологических наук

Ю.А. Журавлёва

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность и степень разработанности темы.** На современном этапе бесплодие представляет собой новую глобальную проблему здравоохранения [Лебедев Г.С. с соавт., 2019, Barati E. et al., 2020 Busetto G.M. et al., 2020]. В последние годы была существенно переосмыслена роль мужского фактора в структуре бесплодного брака, поскольку неуклонно увеличивается количество мужчин с нарушенной фертильностью [Шевырин А.А., 2018]. Патогенез мужского бесплодия носит полиэтиологический характер и является результатом сочетанного воздействия целого ряда факторов, таких как врожденные и приобретенные аномалии органов мочеполовой системы, инфекционно-воспалительные заболевания, эндокринные нарушения, генетические аномалии, иммунологический факторы, ожирение, хронические системные заболевания, стресс, образ жизни, воздействие неблагоприятных условий на рабочем месте [Barratt C.L. et al., 2017, Agarwal A. Et al., 2018]. С каждым годом увеличивается количество мальчиков, страдающих различными формами патологии репродуктивной системы, а значит, основа бесплодия закладывается уже в различные периоды детства, отрочества, юношества [Гусева О.Е. с соавт., 2016]. В качестве одной из наиболее распространенных причин мужской инфертильности рассматривается варикоцеле, пик диагностики которого приходится на пубертатный период развития мальчиков в возрасте 14-15 лет [Al-Ali B.M. et al., 2013, Cho P.S. et al., 2021].

Варикоцеле – это комплекс венозной патологии, поражающий лозовидное сплетение семенного канатика, вены которого становятся аномально расширенными и извитыми [Canarella R., et al. 2019]. В 77-92% варикоцеле является левосторонним [Евдокимов В.В. с соавт., 2017]. Это обусловлено анатомическими различиями в венозной системе яичек, поскольку правая яичковая вена впадает в нижнюю полую вену, а левая – в левую почечную вену [Eisenberg M.L., et al., 2011]. Повышение гидростатического давления в левой тестикулярной вене обусловлено компрессией почечной вены слева аортой и верхней мезентериальной артерией – аорто-мезентериальный пинцет (nutcracker effect), что и приводит к варикозному расширению вен семенного канатика слева [Naughton C.K., et al., 2011]. Резкое увеличение заболеваемости варикоцеле именно в период полового созревания связывают с ускоренным ростом в целом и увеличением объема кровотока во время роста яичек [Андреев Р.Ю. и соавт., 2019].

При варикоцеле выделяют несколько патофизиологических механизмов, приводящих к нарушению сперматогенеза. К ним относятся венозный застой и

увеличение гидростатического давления в семенной вене, гипертермия яичек, гипоксия и ишемия тканей яичек, приводящая к их атрофии, рефлюкс в семенную вену токсических метаболитов почек и надпочечников, развитие местной воспалительной реакции, сопровождающейся выработкой интерлейкинов, образование антиспермальных антител (АСАТ), эндокринные и метаболические нарушения, развитие окислительного стресса, вызывающего фрагментацию ДНК сперматозоидов, нарушение их подвижности и приводящего к апоптозу половых клеток [Di Luigi L., et al., 2001, Al-Daghistani H.I. et al., 2010, Liu J., et al., 2014].

Воздействие последствий варикоцеле на функцию яичка в детском и подростковом возрасте изучено недостаточно [Agarwal A. et al., 2022]. Неясно его влияние на дальнейшую фертильность, поскольку основная масса исследований проводилась взрослым мужчинам с диагностированным бесплодием и варикоцеле рассматривалось как его причина [Macey M.R. et al., 2018, Cannarella R. et al., 2019].

С конца 70-х годов прошлого века наступил период, когда требованием к варикоцелэктомии стало не бесплодие, а наличие варикоцеле, показания к хирургическому лечению выставляются по факту его диагностирования и оно вошло в список обязательного оперативного лечения в нашей стране [Окулов с соавт., 2018]. Хирургическое лечение варикоцеле у подростков выступает гарантом профилактики бесплодия у мужчин настолько бесспорным, что послеоперационная оценка сохранности функции гонад не проводится. Хороший результат оперативного лечения варикоцеле еще не гарантирует улучшения функционального состояния гонад в послеоперационном периоде, многими исследователями отмечается кратковременность положительного эффекта такого лечения, а негативные эффекты варикоцеле, даже после варикоцелэктомии, являются долгосрочными и неуклонно прогрессирующими, что может привести к развитию бесплодия в последующие годы [Чиркина Т.М. с соавт., 2018]. Пубертатный период, на который приходится пик диагностики варикоцеле и его лечения, в том числе оперативного, сам по себе является критическим периодом становления репродуктивной функции и остается неизвестным, какие патогенетические механизмы бесплодия, помимо варикоцеле, реализуются в этот период. По данным Европейской ассоциации урологов, Европейского сообщества детских урологов, несмотря на большое количество публикаций отдаленные результаты варикоцелэктомии на фертильность остаются неизвестными [Silay M.S. et al., 2018]. Подростки с варикоцеле представляют крайне неоднородную группу, так как у них происходит быстрая смена гормонального фона, у каждого разные возрастные сроки

вступления в пубертат и его окончания, что существенно затрудняет стандартный подход к диагностике и лечению варикоцеле [Chung J.M. et al., 2018]. Оценка функционального состояния гонад, эндокринной системы у развивающегося организма представляет собой определенные трудности, а главный критерий – восстановление фертильности – вообще может быть оценен только по достижении половой зрелости, а с учетом современных тенденций к отсроченному отцовству возможность оценки результатов операции и вовсе откладывается на неопределенный срок [Цуман В.Г., 2007, Rogozin Д.С. и соавт., 2019].

Оценка состояния фертильности при варикоцеле и после его хирургической коррекции должна выполняться с учетом анализа всех возможных причин возникновения бесплодия, как связанных с нарушением гемодинамики яичка, так и сопутствующих. Общее состояние здоровья в пубертатный период играет важную роль в формировании репродуктивного потенциала мужчины, а раннее выявление факторов, способствующих развитию андрологической патологии, дает возможность своевременного предотвращения развития бесплодия в будущем.

Комплексная оценка влияния факторов, оказывающих негативное влияние на репродуктивное здоровье подростков пубертатного возраста с варикоцеле в послеоперационном периоде, имеет фундаментальное значение для понимания роли варикоцеле в формировании бесплодия.

**Цель исследования:** На основании анализа иммунологических, гормонально-метаболических, генетических, бактериологических показателей выполнить оценку репродуктивного здоровья подростков после варикоцелэктомии в период с 14 до 17 лет.

**Задачи:**

1. Оценить динамику уровня антиспермальных антител после варикоцелэктомии у подростков в период с 14 до 17 лет.

2. Определить цитокиновый профиль сыворотки крови за исследуемый период и эякулята по достижении 17 лет у подростков с хирургической коррекцией варикоцеле.

3. Проанализировать влияние гормонально-метаболических, генетических, бактериологических факторов на репродуктивный потенциал подростков с варикоцеле в послеоперационном периоде.

4. Определить изменения параметров эякулята и ультраструктуры сперматозоидов в 17 лет у подростков с оперативным лечением варикоцеле.

5. Оценить выраженность патоморфологических и ультраструктурных

изменений вен лозовидного сплетения в зависимости от степени варикоцеле.

б. Дать оценку влияния степени варикоцеле, сроков оперативной коррекции на исследуемые показатели.

**Методология и методы исследования.** Для достижения цели и решения поставленных задач были использованы иммунологические, эндокринологические, биохимические, антропометрические, гистологические, электронно-микроскопические и статистические методы исследования.

**Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора.** Достоверность полученных результатов исследования обеспечена достаточным объемом материала, обоснованность выводов и рекомендаций базируется на продуманном методическом и методологическом подходе к выполнению исследования с формулировкой и проверкой рабочей гипотезы, использовании широкого спектра апробированных современных лабораторных тестов и сертифицированных наборов реагентов, статистической обработке полученных данных адекватными методами статистического анализа с применением компьютерных программ Statistica 10.0 (Stat.Soft. Inc., США).

Материалы диссертации доложены и обсуждены на российских и международных конференциях, конгрессах и симпозиумах: XXVI Российская конференция по электронной микроскопии (г. Зеленоград, 2016); Всероссийская научная конференция с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и при патологии» (г. Москва, 2020); Областная научно-практическая конференция «Современная лабораторная медицина для клинических решений. Уральский форум – 2021» (г. Екатеринбург, 2021); Международный Форум «Прорывные технологии в науке и медицинском образовании» (г. Екатеринбург, 2022); VI Научно-практическая конференция с международным участием «Современные реалии и качество жизни пациента с рекуррентными респираторными заболеваниями. Персонализированный подход к диагностике и лечению» (г. Москва, 2022); XVII Конгресс с международным участием «Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения» (г. Санкт-Петербург, 2022); XIII Всероссийская школа-конференция по клинической иммунологии «Иммунология для врачей» (Пушкинские горы, Псковская область, 2023); XVII Всероссийский научный форум с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (г. Санкт-Петербург, 2023); III Международная конференция «Врач. Пациент. Общество: иммунология, генетика, закон» (г. Екатеринбург, 2023); XVIII

Всероссийская конференция с международным участием «Иммунологические чтения в г. Челябинске» и Международная школа «Проточная цитометрия в клинической и лабораторной диагностике» (г. Челябинск, 2023); Международный медицинский конгресс «Педиатрия 2023: вместе создаем здоровое будущее» (г. Екатеринбург, 2023).

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования. Планирование научной работы, включая формулировку рабочей гипотезы, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования, основной идеи, цели и постановка задач проводились совместно с научными консультантами: научным руководителем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии Уральского Отделения Российской Академии Наук (ИИФ УрО РАН), академиком РАН, д.м.н., профессором В.А. Черешневым и главным врачом ГАУЗ СО «КДЦ», д.м.н., профессором, Заслуженным врачом РФ Я.Б. Бейкиным.

Работа выполнена на базе лабораторий иммунопатофизиологии и лаборатории иммунологии воспаления ИИФ УрО РАН, г. Екатеринбург. Набор материала (отбор пациентов для исследования, забор биоптатов вен) выполнены под руководством детского уролога-андролога, детского хирурга, доцента кафедры детской хирургии ФГБОУ ВО Уральского государственного медицинского университета Минздрава России (УГМУ), к.м.н. Комаровой С.Ю. в Государственном автономном учреждении здравоохранения Свердловской области «Детская городская клиническая больница № 9 город Екатеринбург» (ГАУЗ СО «ДГКБ № 9»). Лабораторные исследования выполнены в Государственном автономном учреждении здравоохранения Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург» (ГАУЗ СО «КДЦ») и центральной научно-исследовательской лаборатории УГМУ. Гистологическое и ультраструктурное исследование вен семенного канатика выполнено совместно с врачом-патологоанатомом лаборатории электронной микроскопии, к.м.н. Клейном А.В. Оценка и интерпретация данных иммунологических методов исследования проводилась при участии заведующей лабораторией клинической иммунологии, д.б.н. Лагеревой Ю.Г., оценка уровня гормонов, биохимических показателей, спермограммы – при участии к.б.н. Беляевой С.В., заведующей клинико-диагностической лабораторией, результатов генетических исследований – при участии к.б.н. Рыбиной И.В., заведующей

лабораторией генетики, микробиологических исследований – совместно с к.б.н. Розановой С.М., заведующей лабораторией микробиологических методов исследования. Подготовка публикаций по теме диссертации осуществлялась автором совместно с научными консультантами.

На диссертационное исследование получена рецензия от Цап Натальи Александровны, д.м.н., проф., главного внештатного специалиста – детского хирурга Минздрава России по Уральскому федеральному округу Минздрава Свердловской области, в которой положительно оценены актуальность, научная новизна, полученные результаты, практическая значимость и обоснованность научных положений и выводов работы.

Автор выражает признательность и благодарность названным коллективам и сотрудникам за консультативную помощь при анализе полученных данных.

Работа посвящена памяти Бейкина Якова Борисовича, научного консультанта, д.м.н., профессора, Заслуженного врача РФ.

Выбор методов исследования, научно-информационный поиск, анализ и обобщение данных отечественной и зарубежной литературы, анализ и интерпретация полученных данных, статистическая обработка, подготовка научных публикаций, написание и оформление рукописи, внедрение результатов диссертационной работы в практическую деятельность лечебно-профилактических учреждений здравоохранения осуществлено лично автором.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. В пубертатном периоде после варикоцелэктомии иммунологические, гормонально-метаболические и генетические показатели свидетельствуют о сохранности репродуктивного здоровья подростков, интегральным показателем которого является нормальный сперматогенез.

2. По окончании пубертатного периода у подростков с хирургической коррекцией варикоцеле в послеоперационном периоде случаи патологических изменений сперматозоидов обнаружены при наличии бактериоспермии.

3. После варикоцелэктомии на протяжении пубертатного периода отсутствует негативное влияние степени прогрессии варикоцеле и давности оперативной коррекции на показатели репродуктивного потенциала.

### **Научная новизна.**

Впервые проанализированы возможные механизмы нарушения репродуктивной функции у подростков после варикоцелэктомии в пубертатный

период, в том числе патогенетически не связанные с варикоцеле (генетические, инфекционные).

Впервые для оценки репродуктивного здоровья проведены мониторинг иммунологических, гормонально-метаболических, антропометрических показателей на протяжении пубертатного периода с 14 до 17 лет, а также исследование эякулята у подростков после хирургической коррекции варикоцеле.

Впервые выполнена оценка влияния последствий варикоцеле и отдаленных результатов варикоцелэктомии на репродуктивное здоровье у подростков после оперативного лечения варикоцеле на протяжении четырех лет; установлено, что в пубертатный период не происходит нарушения репродуктивного потенциала за счет патогенетических механизмов, обусловленных варикоцеле, таких как ишемия, гипоксия, гипертермия тестикулярной ткани.

Впервые установлено, что у подростков с варикоцеле случаи патоспермии (астенозооспермии) вызваны бактериоспермией, обусловленной условно-патогенной микрофлорой.

Впервые проведено определение частоты встречаемости генетических факторов бесплодия (изменений кариотипа, делеций локуса AZF, мутаций гена CFTR) при варикоцеле у подростков; установлено, что их количество не превышает 5 % и не сопровождается нарушением сперматогенеза.

Впервые продемонстрировано отсутствие влияния степени прогрессии варикоцеле на функцию гематотестикулярного барьера, эндокринную функцию тестикулярной ткани, показатели сперматогенеза при варикоцеле у подростков в послеоперационном периоде.

Показано, что варикоцелэктомия и сроки ее выполнения не оказывает влияния на показатели фертильного потенциала у подростков с варикоцеле.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Диссертационная работа дополняет существующие концепции о механизмах нарушения репродуктивной функции у подростков с варикоцеле. Полученные данные создают теоретическую основу для оценки состояния репродуктивного здоровья подростков после варикоцелэктомии.

Практическая значимость работы заключается в формировании базы данных значений антиспермальных антител, цитокинов, гормонов, биохимических показателей в сыворотке крови, характерных для разных возрастных периодов (14,15,16,17 лет), а также уровня антиспермальных антител и цитокинов в семенной плазме, значений спермограммы и результатов бактериологического исследования эякулята в 17 лет не только у подростков с варикоцеле, но и у здоровых подростков. Полученные результаты позволят более объективно и комплексно оценивать изменения в репродуктивной сфере у подростков с варикоцелэктомией при катamnестическом наблюдении.

Определена группа риска нарушения репродуктивной функции в подростковом возрасте, характеризующаяся астенозооспермией, обусловленной условно-патогенной микрофлорой урогенитального тракта.

Показано, что реорганизация стенки вен семенного канатика при варикоцеле обусловлена компенсаторной трансформацией в результате локально сформировавшейся эндотелиальной дисфункции, о чем свидетельствуют выраженные структурные изменения эндотелиоцитов, а не дисплазией сосудов, которая могла бы способствовать прогрессированию варикоцеле.

Доказано отсутствие клинически значимой разницы в исследуемых показателях и их влияния на репродуктивный потенциал у подростков с варикоцеле в зависимости от степени варикоцеле, сроков оперативной коррекции в возрасте с 14 до 17 лет.

**Внедрение результатов исследования в практику.** Полученные результаты и разработанные рекомендации внедрены в практическую деятельность клинико-диагностической лаборатории, лабораторий иммунологии, микробиологии, электронной микроскопии Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург» (ГАУЗ СО «КДЦ»), в научно-исследовательскую деятельность лабораторий иммунопатофизиологии и иммунологии воспаления Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии УрО РАН (ИИФ УрО РАН), в учебный процесс кафедры детской хирургии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (УГМУ, г. Екатеринбург).

**Конкурсная поддержка.** Работа поддержана программой Госзадания ИИФ УрО РАН, № гос.регистрации 122020900136-4.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 19 научных работ, из них 14 в изданиях, рецензируемых ВАК (по специальностям 3.2.7. Иммунология и 3.3.3. Патологическая физиология) и/или индексируемых в МБД – Scopus, RSCI, PubMed.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 236 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы с изложением результатов собственных исследований, главы с изложением анализа полученных данных, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация иллюстрирована 20 рисунками, 37 таблицами. Библиография включает 373 источника, из них 94 отечественных и 279 зарубежных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы.** Для достижения цели и решения поставленных задач проведено проспективное исследование, изучены 258 историй болезни, выполнен анализ клинико-anamnestических данных (I этап).

Критерии включения в основную группу: варикоцеле II и III степени.

Критерии включения в группу сравнения: отсутствие варикоцеле.

Критерии включения для исследования эякулята: возраст 17 лет, наличие опыта мастурбации.

Критерии исключения: травмы и врожденные аномалии органов репродуктивного тракта, эндокринные нарушения, эпидемический паротит в анамнезе, аутоиммунные заболевания, любые системные заболевания, способные повлиять на результаты исследования, соблюдение специальной диеты, наличие признаков инфекционно-воспалительного процесса уrogenитального тракта, наличие острых или обострение хронических локальных или системных воспалительных процессов, половые контакты без барьерных методов контрацепции.

Информированное согласие на участие в каждом исследовании получено от подростков и их законных представителей, получено заключение этического комитета на проведение исследования.

На основании полученных результатов сформирована основная группа из 100 подростков с варикоцеле II и III степени в возрасте 14 лет, всем подросткам выполнена лапароскопическая варикоцелэктомия. В зависимости от поставленных

задач основная группа подростков была подразделена на 4 подгруппы по следующим двум критериям:

1. В зависимости от степени варикоцеле -

1 подгруппа - подростки с II степенью варикоцеле (49 человек),

2 подгруппа - подростки с III степенью варикоцеле (51 человек);

2. В зависимости от сроков оперативной коррекции –

3 подгруппа - до оперативной коррекции варикоцеле (46 человек);

4 подгруппа - подростки с оперативной коррекцией варикоцеле в 12-13 лет (54 человека).

Подросткам из 3 подгруппы первое определение иммунологических, гормонально-метаболических показателей выполнено перед оперативной коррекцией варикоцеле, затем проведена варикоцелеэктомия и далее они обследовались согласно методологии исследования.

Группа сравнения – подростки без варикоцеле в возрасте 14 лет, 30 человек.

Одни и те же подростки обеих групп обследовались начиная с возраста 14 лет до достижения ими 17 лет.

На следующем этапе работы выполнены антропометрические и лабораторные исследования (иммунологические, гормональные, биохимические) в сыворотке крови ежегодно однократно за возрастной период от 14 до 17 лет в каждой группе подростков. За этот период однократно проведена диагностика основных генетических факторов нарушения репродуктивной функции у мужчин. По достижении подростками 17 лет выполнено исследование эякулята, включающее в себя иммунологическое и бактериологическое исследования, спермограмму и электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов (ЭМИС). Проведены морфологические (гистологическое, электронно-микроскопическое) исследования биоптатов вен семенного канатика, взятых во время оперативной коррекции варикоцеле (подросткам из 3 подгруппы). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

### **Методы исследования**

#### *Иммунологические методы исследования*

Определение АСАТ в сыворотке крови (Ig G) выполняли методом количественного ИФА на сертифицированных диагностических наборах фирмы «Bioserv» (Германия). В исследовании определяли концентрацию антител в МЕ/мл, положительным считался результат с концентрацией более 60 МЕ/мл. Уровень АСАТ менее 60 МЕ/мл оценивали, как нормальный. Оценку результатов исследования выполняли на фотометре «Multiscan Plus» фирмы «Labsystems» (Финляндия).

## ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ



Рисунок 1 – Дизайн исследования

АСАТ в семенной жидкости (IgG, IgA суммарные) определены с помощью метода латексной агглютинации на диагностических наборах фирмы «Bioserv» (Германия). В исследовании семенную плазму, полученную путем центрифугирования эякулята, разведенную буфером для разведения образцов, смешивали с суспензией латексных частиц. В случае наличия в образце семенной плазмы специфических антител, направленных против спермальных антигенов, латексные частицы, сорбированные антигеном, агглютинировали в течение 1-2 минут. Положительным считали тест на присутствие АСАТ, если агглютинация присутствовала при разведении образца начиная с 1: 100 (визуальная оценка теста).

Определение уровня секретированных цитокинов в сыворотке крови и эякуляте проводили с помощью наборов «Вектор – Бест» (Россия), предназначенных для количественного определения уровня IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , IL-4, IL-10, VEGF методом ИФА на анализаторе Model 680 (BioRad, США).

*Антропометрические исследования.* Выполняли измерение соматометрических показателей (рост и масса тела) с последующей оценкой соответствия их возрастным нормам с помощью центильных таблиц. Произведен расчет индекса массы тела (ИМТ) по формуле: вес (кг)/рост (м)<sup>2</sup>.

*Гормональные исследования.* В сыворотке крови измеряли концентрации гормонов гипофиза – фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), репродуктивных гормонов – эстрадиола, андрогенов – тестостерона на автоматическом хемилюминесцентном анализаторе ADVIA Centaur XP фирмы Siemens с использованием диагностических наборов фирмы Siemens (Германия).

*Биохимические исследования.* В сыворотке крови определяли показатели углеводного (глюкоза), липидного обменов (холестерин, ЛПНП, ЛПВП, триглицериды) на автоматическом биохимическом анализаторе AU 680 фирмы Beckman Coulter с использованием диагностических наборов этой же фирмы.

*Генетические исследования.* Для получения и анализа хромосомного материала использовали цельную периферическую кровь. Цитогенетическое исследование выполняли по стандартной методике (Кулешов Н.П., 1991). Анализ хромосомных препаратов выполняли на микроскопе «OLYMPUS» под масляной иммерсией (оценивали общее количество хромосом в метафазной пластинке, проводили индивидуальную идентификацию хромосом по морфологическим характеристикам и дифференциальной окраске). Сравнение хромосом на

полученных препаратах проводили с вариантами нормального кариотипа, представленными в атласе «Хромосомы человека» (Захаров А.Ф., 1982). Обозначение хромосом выполнено в соответствии с Парижской номенклатурой хромосом 1985 г. (Кулешов Н.П., 1991). Исследование делеций локусов AZF и гена CFTR выполняли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием прибора «ДТ-Прайм» (Россия). Выделение ДНК из цельной периферической крови проводили с применением диагностических наборов «Рапид-генетика» производства ООО «ДНК-Технология» (Россия) в соответствии с инструкцией. Исследование локуса AZF проводили на диагностическом наборе «Генетика наследственных заболеваний. Делеции локуса AZF» («ДНК-Технология», Россия), который позволяет выявить делеции следующих маркеров: sY84, sY86, sY127, sY134, sY142, sY242, sY254, sY255, sY615, sY1125, sY1197, sY1206, sY1291.

Изучение гена CFTR выполняли на наборе «Муковисцидоз скрин» («ДНК-Технология»), включающем в себя 8 точек: CFTR\_F 508del, CFTR\_E92k, CFTR\_w1282x, CFTR\_N1303k, CFTR\_214delT, CFTR\_1677delTA, CFTR\_3849kbC>T, CFTR\_dele2,3(21kb).

*Исследование эякулята (спермограмма)* выполняли в соответствии с критериями WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5<sup>th</sup> ed. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2010.

*Бактериологическое исследование эякулята.* Материал засеивали методом истощающего мазка стерильной бактериологической петлей на кровяно-дрожжевой и шоколадный агар. Культивирование происходило при 35<sup>0</sup>С. Для создания анаэробных условий шоколадный агар помещали в анаэростат. Через 16-18ч чашки Петри просматривали и при отсутствии роста выдерживали до 48ч. Оценку выросших колоний проводили полуколичественным методом. Для видовой идентификации использовали метод времяпролетной масс-спектрометрии, позволяющий проводить протеомный анализ с предварительной деградацией лазером на масс-спектрометре MicroFlex LT Maldi-ToF (Bruker, Германия).

*Гистологическое исследование биоптатов вен.* Подготовку препаратов вен семенного канатика выполняли с применением окраски гематоксилином и эозином, по Ван Гизону. Исследование срезов проводили на микроскопе фирмы «OLYMPUS» с комплексным программным обеспечением.

*Электронно-микроскопическое исследование биоптатов вен, сперматозоидов.* Биоптат вены и нативный эякулят в соотношении 1:2 мл фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида. Затем фиксированный эякулят центрифугировали. Биоптат вены и полученный осадок эякулята помещали для последующей дофиксации в 1% раствор 4-х окиси осмия. Затем образцы проводили в этиловом спирте в возрастающей концентрации и полимеризовали в аралдитовой смоле при температуре 60 градусов. Ультратонкие срезы получали на ультратоме Leica EM UC6 (Leica Mikrosysteme GmbH, Австрия), контрастировали цитратом свинца и исследовали в электронном микроскопе Morgagni 268 (FEI Company, Чехия-Голландия). Обзорный просмотр выполнен с использованием увеличений 1800-3500, детализация структур проведена при увеличении 18000-22000.

**Статистический анализ** полученных данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10 (StatSoft Inc.) с помощью методов медико-биологической статистики [Гланц С., 1999]. Выполнена предварительная оценка нормальности распределения (w-критерий Шапиро-Уилкса). Для оценки статистически значимых отличий между признаками с нормальным распределением применяли параметрический критерий Стьюдента (t), с поправкой Бонферрони при множественном сравнении. В случае ненормального характера распределения данных для анализа статистической значимости использовали критерий Краскела-Уоллиса, обобщенный U-критерий Манна-Уитни. Для получения статистической значимости качественных признаков применяли критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность (ожидаемые частоты  $\geq 5$ ) и точного двустороннего критерия Фишера (ожидаемые частоты  $< 5$ ). Различия между группами считались достоверными при уровне значимости  $p \leq 0,05$ . Статистические взаимосвязи определяли при помощи корреляционного анализа с расчетом коэффициентов корреляции Спирмена и Пирсона. Результаты во всех таблицах в случае нормального распределения представлены в виде средней арифметической и среднеквадратичного отклонения ( $M \pm \sigma$ ), при ненормальном распределении – в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (25 %-75%).

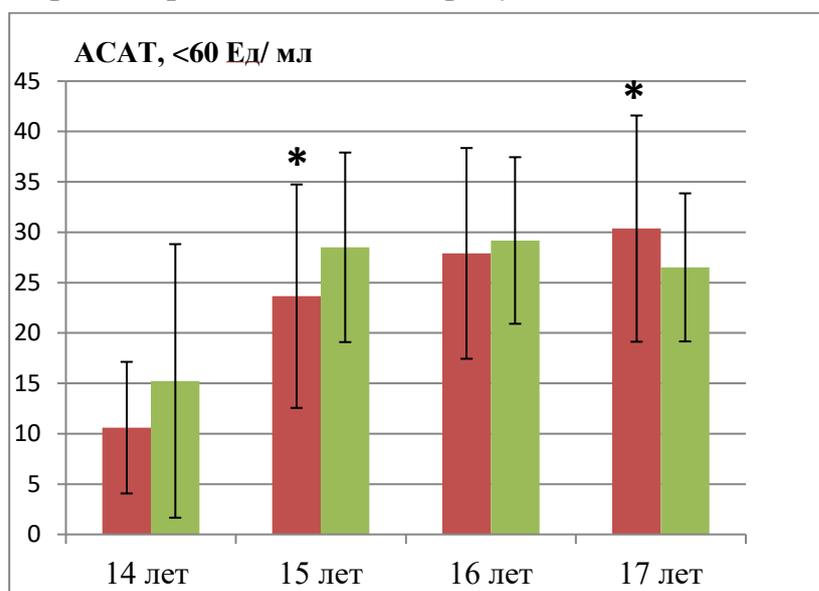
## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Основными звеньями патогенеза нарушения репродуктивной функции при варикоцеле выступают венозный застой и обусловленные им ишемия, гипоксия и гипертермия тестикулярной ткани, оказывающие негативное влияние на клетки

Сертоли (нарушение гематотестикулярного барьера), Лейдига (нарушение эндокринной функции) и сперматогенный эпителий (нарушение сперматогенеза).

### Динамика уровня АСАТ в сыворотке крови у подростков с варикоцеле

Варикоцеле рассматривается в качестве фактора, разрушающего иммунологическую привилегированность тестикул, результатом чего является формирование аутоиммунных реакций против сперматозоидов с образованием АСАТ, которые обнаруживаются в сыворотке крови и жидкостях репродуктивного тракта и являются маркерами иммунологической формы бесплодия. Динамика уровня АСАТ в сыворотке крови показана на *рисунке 2*.



**Рисунок 2 - Динамика уровня АСАТ у подростков основной группы и группы сравнения с 14 до 17 лет**

*Примечание:* ■ - основная группа, ■ - группа сравнения; \* - статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения; ( $p \leq 0,05$ ).

За весь период наблюдения у подростков обеих групп не зафиксировано ни одного случая превышения допустимого уровня АСАТ в сыворотке крови. Оценивая динамику уровня АСАТ установлено, что статистически значимое повышение отмечалось в 15 лет в группе сравнения и в 17 лет в основной группе. Повышение синтеза тестостерона в этот период способствует формированию плотных контактов между клетками Сертоли, запускает фазу мейоза зародышевых клеток герминативного эпителия. Половые клетки завершают свой первый сперматогенный цикл, нарастает экспрессия на поверхности клеток новых антигенов и происходит их презентация иммунокомпетентным клеткам, что и отражается в резком подъеме уровня АСАТ в этот период. К 17 годам процесс формирования гематотестикулярного барьера завершается, новые АСАТ уже не образуются, имеющиеся - постепенно элиминируются, что демонстрирует

динамика уровня АСАТ у подростков группы сравнения. У подростков с варикоцеле тенденции к снижению уровня АСАТ к окончанию пубертатного периода не зафиксировано.

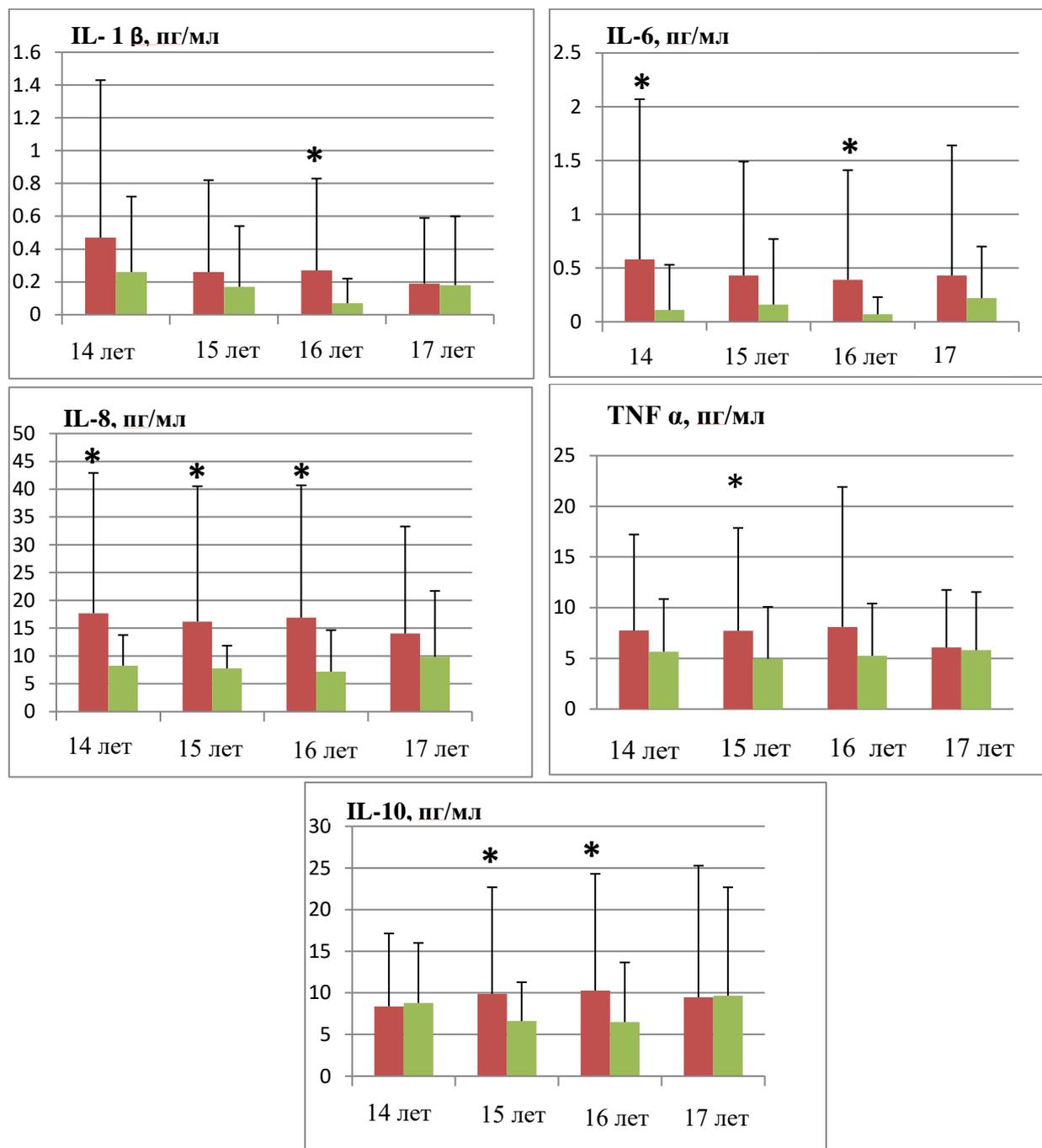
При анализе динамики уровня АСАТ в сыворотке крови в зависимости от степени варикоцеле не было установлено статистически значимых различий между подростками с II и III степенью варикоцеле. Клиническая степень варикоцеле, по всей видимости, не отражает тяжесть повреждения гематотестикулярного барьера.

Анализ динамики уровня АСАТ в зависимости от давности варикоцелэктомии не показал статистически значимых различий в уровне АСАТ у пациентов 3 и 4 подгрупп в возрасте 14 лет. В дальнейшем послеоперационном периоде также не отмечено статистически значимых различий в уровне АСАТ между группами одного возраста. Можно предположить, что оперативная коррекция не привела к изменению функции гематотестикулярного барьера.

**Содержание АСАТ в эякуляте у подростков с варикоцеле.** В основной группе в 85 случаях (85%) АСАТ не были обнаружены, а в 9 случаях (9%) определялся титр 1:50, соответствующий допустимому значению. Превышение нормативных значений зафиксировано в 6 случаях (6%), из которых у пяти пациентов (5%) титр составил 1:100, а у одного обследуемого (1%) был определен титр 1:200. В группе сравнения из 30 человек только у трех (10%) обследуемых был определен титр АСАТ 1:50. У остальных обследуемых АСАТ в семенной жидкости не были выявлены. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что к окончанию пубертатного периода у подростков гематотестикулярный барьер сформирован и контакта с антигенами сперматозоидов клеток иммунной системы не происходит. Таким образом, в пубертатном периоде после варикоцелэктомии не происходит формирования аутоиммунной формы бесплодия.

**Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови у подростков с варикоцеле.** Цитокины традиционно рассматриваются в качестве маркера воспалительного процесса инфекционной или неинфекционной природы. Для оценки выраженности воспалительного процесса в стенке измененных вен были исследованы провоспалительные цитокины (IL- 1 $\beta$ , IL- 6, IL- 8, TNF $\alpha$ ), противовоспалительные цитокины (IL- 4, IL- 10) и фактор сосудистого роста VEGF – маркер ангиогенеза.

Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови, имеющих статистически значимые отличия, у подростков основной группы и группы сравнения за период с 14-17 лет представлена на *рисунке 3*.



**Рисунок 3- Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови у подростков основной группы и группы сравнения с 14 до 17 лет**

*Примечание:* ■ - основная группа; ■ - группа сравнения; \* - статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения ( $p \leq 0,05$ ).

При исследовании динамики исследуемых цитокинов установлено, что на протяжении всего периода исследования сохранялся более высокий, но стабильный уровень всех провоспалительных цитокинов, а также IL-10,

статистически значимые различия выявлены в разные возрастные периоды. Средние показатели IL-4, VEGF статистически значимо не отличались в сравниваемых группах.

Деструкция и десквамация эндотелиоцитов при варикоцеле способствует обнажению коллагена и разрушению внеклеточного коллагенового матрикса, адгезии лейкоцитов, активации макрофагов и протеолитических ферментов, активной секреции провоспалительных цитокинов, и может являться пусковым механизмом развития воспалительного процесса, способствующего прогрессированию варикоцеле. Выявленные на протяжении всего исследования более высокие значения для IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , IL-10 и статистически значимое отличие уровней этих цитокинов у подростков с варикоцеле не настолько выражено, что позволило бы трактовать полученные данные как проявление значительного воспалительного процесса в стенке вен. Вероятно, это связано с тем, что варикоцеле не является системным сосудистым заболеванием, площадь повреждения мала относительно общей площади сосудистого русла и количество поврежденных эндотелиоцитов не приводит к выраженному синтезу цитокинов.

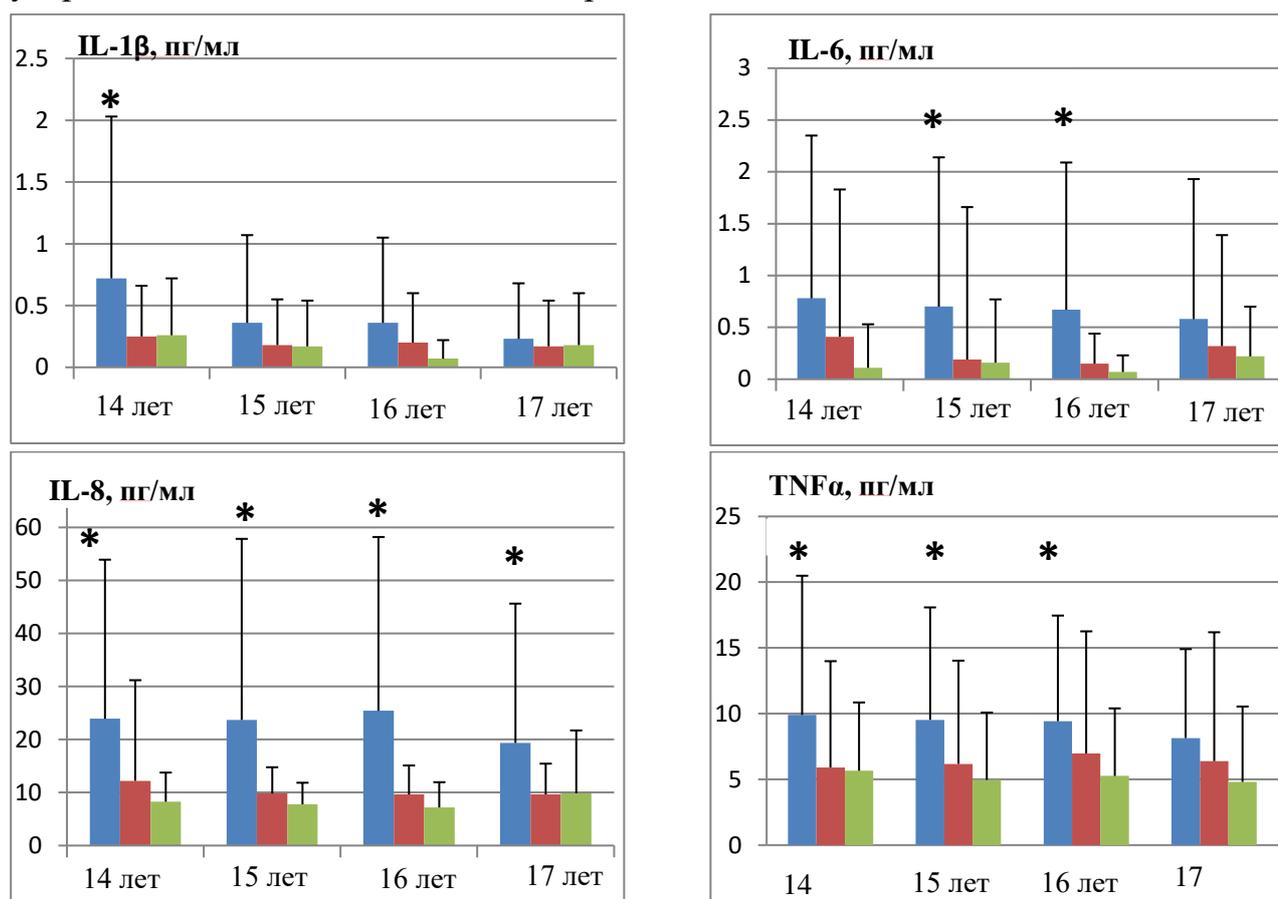
Варикоцелэктомия, замедление роста по мере завершения пубертатного периода привели к снижению гемодинамической нагрузки и в 17 лет уже не отмечалось статистически значимой разницы в уровнях всех исследуемых цитокинов у подростков обеих групп. Уровень VEGF (фактор роста эндотелия сосудов, регулирует ангиогенез и морфологическую перестройку стенки сосуда) сохранялся практически одинаковым во всех обследуемых группах во все возрастные периоды без статистически значимых различий, что может свидетельствовать об отсутствии активации ангиогенеза, а выявленные изменения стенки вен обусловлены компенсаторными механизмами. Сохраняющийся на протяжении всего исследования стабильный уровень исследуемых цитокинов может свидетельствовать об отсутствии прогрессии воспалительного процесса в венах семенного канатика.

При оценке динамики уровня цитокинов в зависимости от степени варикоцеле зафиксировано статистически значимое повышение уровня только IL-4 в 17 лет во 2 подгруппе ( $p \leq 0,022$ ). На основании полученных данных можно предположить, что при обеих степенях варикоцеле изменения в стенке сосудов с точки зрения активности воспалительного процесса существенной разницы не имеют.

Была предпринята попытка определить, существует ли разница в уровне цитокинов и, соответственно, в выраженности воспалительного процесса у подростков, которым еще не проводилось оперативное лечение, а значит, флебопатия присутствует, а также провоцирует ли травма сосуда во время операции воспалительную реакцию, сопровождающуюся повышением уровня цитокинов.

Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови в зависимости от сроков выполнения варикоцелэктомии представлена на *рисунке 4*.

У пациентов из 3 подгруппы выявлены статистически значимо более высокие уровни провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF $\alpha$  в разные возрастные периоды. Показатели уровней цитокинов у подростков 4 подгруппы, которым была выполнена варикоцелэктомия в 12-13 лет, существенно ближе к показателям у подростков без варикоцеле, что вероятно, связано с более ранним устранением гемодинамического стресса.



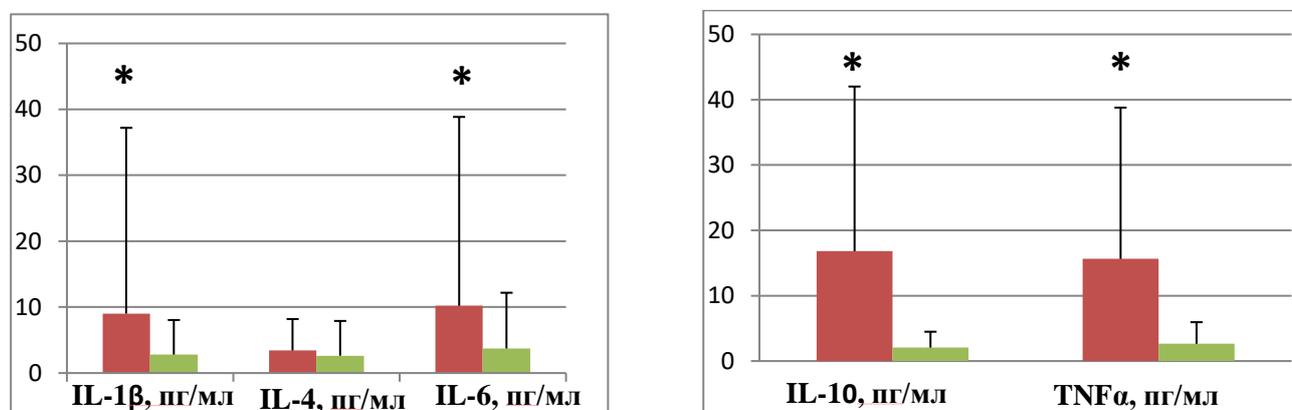
**Рисунок 4- Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови у подростков основной группы в зависимости от давности варикоцелэктомии и у подростков группы сравнения с 14 до 17 лет**

*Примечание:* ■ - подростки основной группы 3 подгруппы; ■ - подростки основной группы 4 подгруппы; ■ - подростки группы сравнения; \* - статистически значимые различия между 3 и 4 подгруппами ( $p \leq 0,05$ ).

### Содержание цитокинов в эякуляте у подростков с варикоцеле.

Цитокиновый профиль эякулята подростков в настоящее время практически не исследован. Результаты исследования, отражающие содержание цитокинов в эякуляте у подростков, представлены на *рисунке 5*.

У подростков с варикоцеле наблюдается статистически значимое повышение уровня всех исследуемых провоспалительных цитокинов, а также IL-10. При варикоцеле на фоне застойного полнокровия венозных сплетений малого таза и возникающего отека парапростатической и паравезикулярной клетчатки больше всего страдают предстательная железа и семенные пузырьки с последующим формированием застойных простатита и везикулита, особенно опасных в этом возрасте из-за еще не установившейся функции этих желез.



**Рисунок 5 - Уровень цитокинов в эякуляте у подростков основной группы и группы сравнения в 17 лет**

*Примечание:* ■ - основная группа; ■ - группа сравнения; \* - статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения ( $p \leq 0,05$ ).

Гипоксия тестикулярной ткани может выступать в качестве промотора хронического воспаления, поскольку способствует индукции транскрипции генов провоспалительных цитокинов. Повышение уровня цитокинов в эякуляте может быть обусловлено инфекционным процессом. В целом, провоспалительные цитокины могут являться более чувствительным маркером повреждения тестикулярной ткани при варикоцеле, после варикоцелеэктомии. Вероятно, повышенный уровень цитокинов в данном случае может рассматриваться в качестве маркера местного воспалительного процесса. С другой стороны, не зафиксировано выраженного повышения уровня цитокинов в эякуляте и, возможно, это свидетельствует об активации адаптационных процессов обусловленных варикоцеле, его оперативным лечением, периодом реабилитации, активацией сперматогенеза в пубертатный период.

Не установлено статистически значимой разницы в уровнях цитокинов в зависимости от степени варикоцеле и сроков оперативной коррекции, что может свидетельствовать об отсутствии влияния клинической формы варикоцеле и сроков варикоцелэктомии на уровень цитокинов в эякуляте.

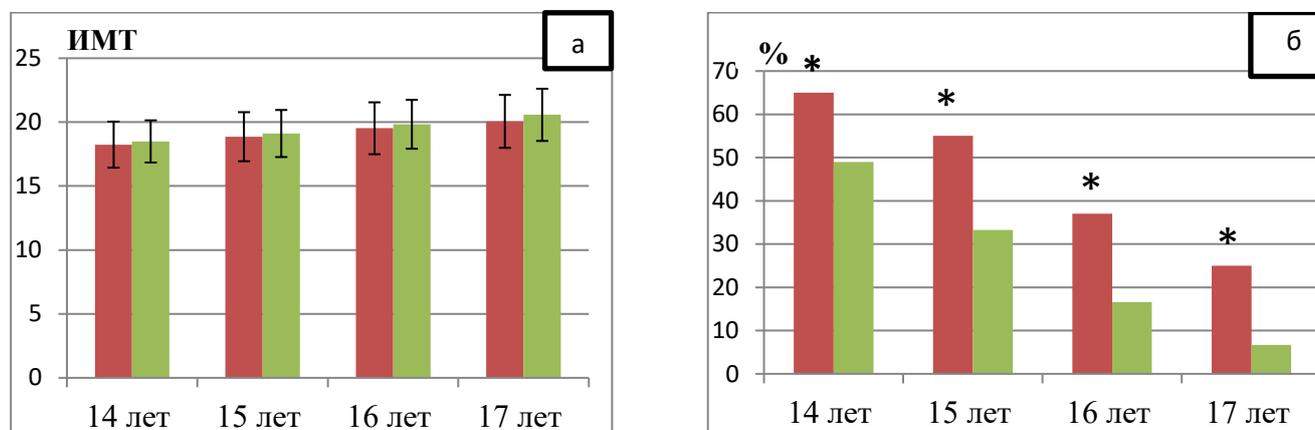
**Характеристика соматометрических показателей у подростков с варикоцеле.** При сопоставлении полученных результатов измерения веса и роста подростков с данными центильных таблиц у четырех подростков (4%) в основной группе и у одного подростка (1,3%) в группе сравнения была определена повышенная масса тела, соответствующая 6 центильному интервалу, и сохранялась на протяжении всего обследования. У остальных обследуемых в 14 лет показатели массы тела соответствовали 3 и 4 центильным интервалам, которые оценивались как пониженный и средний. В 15 лет у подростков отмечалось распределение показателя массы тела в пределах 3,4,5 интервалов. В 16 и 17 лет показатели массы тела подростков обеих групп соответствовали 4 и 5 центильным интервалам, в которые укладываются средние оценки.

При анализе показателей роста у пациентов основной группы в 14 лет зафиксировано 46 (46%) человек с нормальными показателями роста (4 и 5 центильные интервалы), 39 (39%) пациентов имели рост выше среднего (6 центильный интервал) и у 13 (13%) подростков диагностирован рост, соответствующий 90 – 97 перцентелям. Рост ниже среднего выявлен у двух (2%) детей. У обследуемых группы сравнения средний рост был определен у 16 (56%) подростков, рост выше среднего – у 10 (30%) человек, а высокий и очень высокий рост отмечен у четырех (14%) подростков. Такая тенденция в показателях роста сохранялась на протяжении всего исследования в последующие годы. Динамика показателей ИМТ у подростков обеих групп представлена *на рисунке 6*.

Среднее значение ИМТ ниже нормы (менее 18,5) зафиксировано у подростков с варикоцеле в возрасте 14 лет, а в остальных возрастных показателях он укладывался в пределы нормальных значений (18,5 – 24,9).

В группе сравнения средняя величина ИМТ во все возрастные периоды выше, чем у пациентов основной группы, но статистически значимых различий не установлено. Количество подростков с дефицитом массы тела статистически значимо выше в основной группе во всех возрастных периодах. У лиц с дефицитом массы тела может развиваться гиперметаболический синдром, сопровождающийся повышением уровня цитокинов в сыворотке крови, что наблюдалось у подростков основной группы. С возрастом рост обследуемых замедлялся, под действием

тестостерона нарастала мышечная масса, вес увеличивался. Это подтверждалось показателями ИМТ, которые к 16-17 годам смещались в диапазон нормальных величин, влияние этого фактора на прогрессирование варикоцеле нивелировалось.

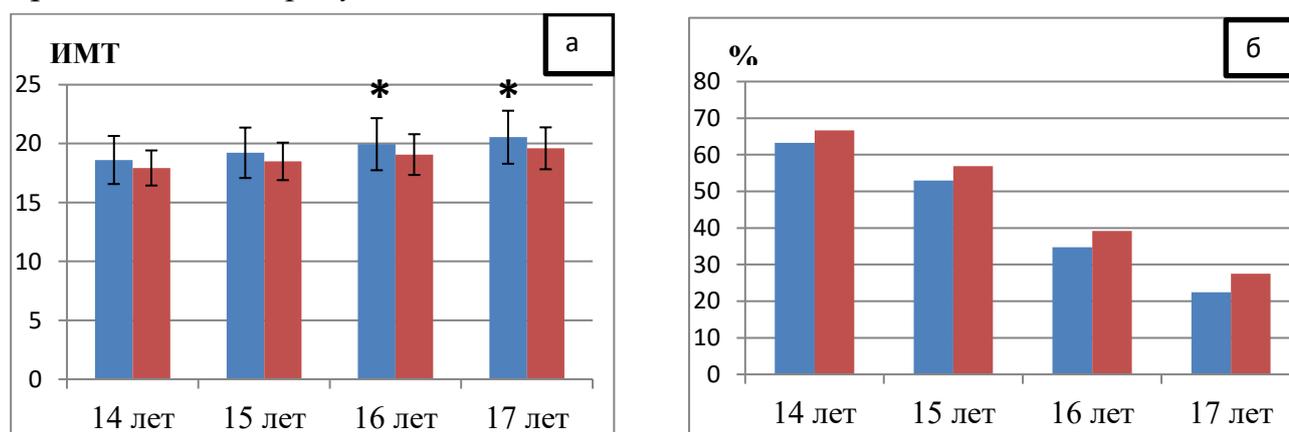


**Рисунок 6 - Динамика показателей ИМТ (а) и частоты встречаемости дефицита массы тела (б) у подростков основной группы и группы сравнения с 14 до 17 лет**

*Примечание:* ■ - основная группа; ■ - группа сравнения; \* - статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения ( $p \leq 0,05$ ).

Отсутствие ожирения у обследуемых подростков позволило исключить возможность снижения уровня тестостерона в этот возрастной период за счет его повышенной ароматизации в жировой ткани в эстрадиол.

Сравнительные результаты показателей ИМТ у подростков 1 и 2 подгрупп представлены на рисунке 7.



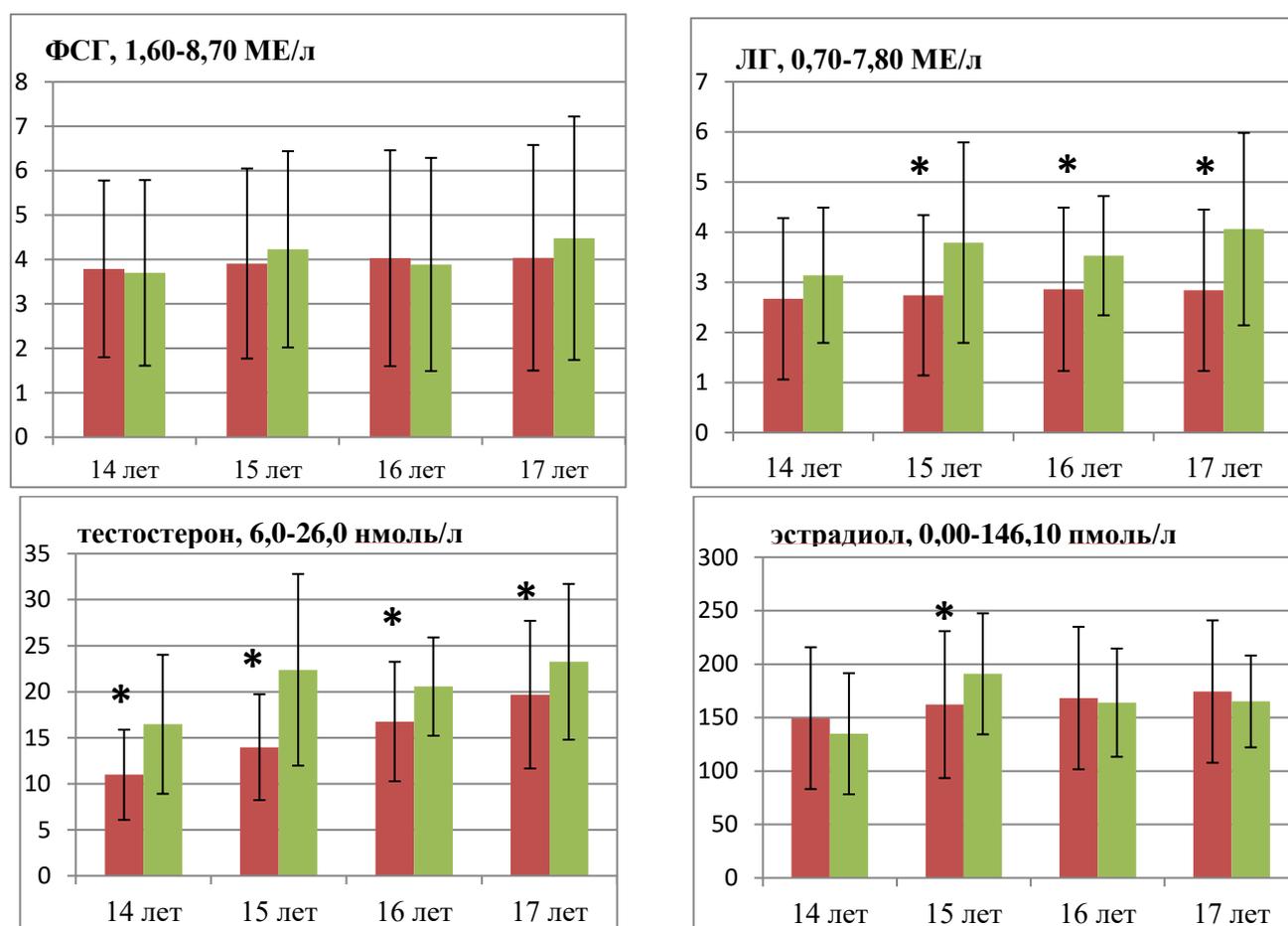
**Рисунок 7 - Динамика показателей ИМТ (а) и частоты встречаемости дефицита массы тела (б) у подростков основной группы в зависимости от степени варикоцеле с 14 до 17 лет**

*Примечание.* ■ - основная группа, 1 подгруппа; ■ - основная группа, 2 подгруппа; \* - статистически значимые различия между 1 и 2 подгруппами ( $p \leq 0,05$ ).

У подростков 2 подгруппы зафиксированы статистически значимо более низкие значения ИМТ в возрасте 16 и 17 лет, но эти показатели в этом возрасте находились в диапазоне нормальных величин. Разницы в количестве человек с дефицитом массы тела в зависимости от степени варикоцеле не установлено.

**Эндокринный профиль подростков с варикоцеле.** При анализе динамики уровня гормонов в пубертатный период, представленном на *рисунке 8*, выявлено, что средние значения уровней ФСГ, ЛГ, тестостерона укладывались в пределы референтных интервалов на протяжении всего исследования, а его превышение установлено для эстрадиола.

Статистически значимо более низкие значения зафиксированы для ЛГ (в 15,16,17 лет) и тестостерона за весь период наблюдения у подростков основной группы, эстрадиола в 15 лет, но, поскольку значения входят в пределы референтных интервалов, они не рассматриваются как патологические.



**Рисунок 8 - Динамика уровня гормонов у подростков основной группы и группы сравнения с 14 до 17 лет**

*Примечание:* ■ - основная группа; ■ - группа сравнения; \* - статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения ( $p \leq 0,05$ ).

При оценке значений уровней гонадотропных гормонов у подростков обеих групп установлено, что их значения не подвергались значительным колебаниям, что позволило исключить наличие первичной эндокринной недостаточности, которая могла бы привести к снижению синтеза тестостерона, помимо варикоцеле.

Разница в уровне тестостерона между сравниваемыми группами отчетливо прослеживалась уже с 14 лет. Динамика уровня тестостерона показала активный пубертатный период, сопровождающийся прогрессирующим нарастанием тестостерона за период 14-17 лет с резким подъемом в 15 лет в группе сравнения и более сглаженным в основной группе. Повышенный синтез тестостерона приводит к его ароматизации, которая происходит не только в жировой ткани, но и в активно развивающейся в этот период мышечной ткани, о чем свидетельствовало нарастание уровня эстрадиола на протяжении всего исследования.

Статистически значимые различия в уровне гормонов и частоте встречаемости отклонений от значений референтного интервала между 1 и 2 подгруппами установлены не были, за исключением уровня ФСГ - выявлено более высокое его значение у подростков с II степенью варикоцеле в 17 лет ( $p \leq 0,011$ ).

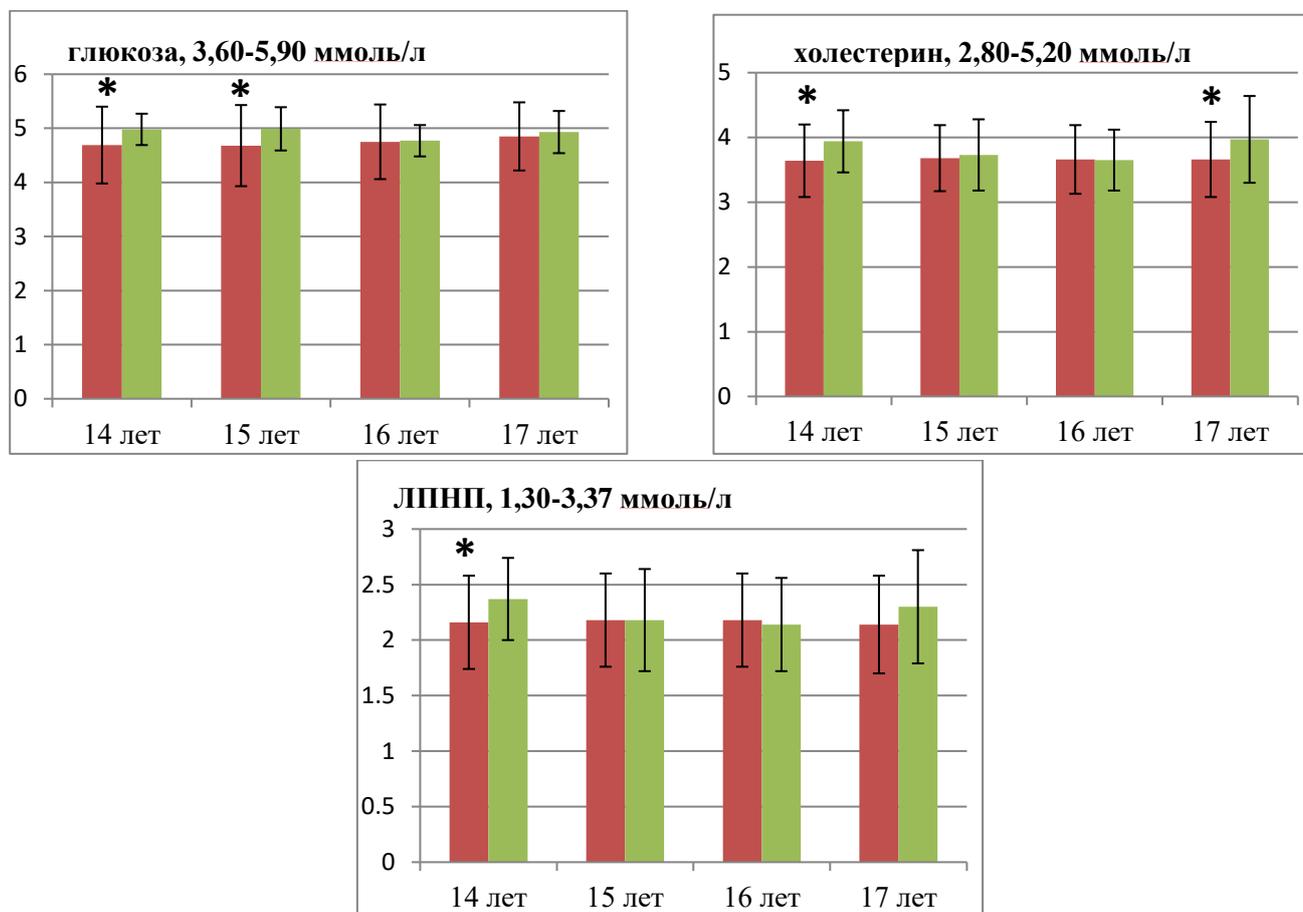
Предполагается, что варикоцелэктомия приведет к улучшению функции клеток Лейдига, что будет способствовать повышению синтеза тестостерона.

Результаты исследования показали статистически значимо более высокие уровни ЛГ у подростков 4 подгруппы за весь период наблюдения (14 лет -  $p \leq 0,011$ ; 15 лет -  $p \leq 0,003$ ; 16 лет -  $p \leq 0,015$ ; 17 лет -  $p \leq 0,004$ ), хотя варикоцелэктомия, как и степень прогрессии варикоцеле, вероятно, не оказывают влияние на уровень гормонов гипофиза. В уровнях тестостерона не установлено статистически значимой разницы в зависимости от давности оперативной коррекции не только в возрасте 14 лет, когда операция части подросткам еще не проводилась, но и в последующий период наблюдения.

Проведенное исследование показало, что в пубертатный период после оперативного лечения варикоцеле не происходит эндокринных изменений, негативно влияющих на репродуктивное здоровье подростков.

**Особенности метаболического статуса подростков с варикоцеле.** К репродуктивно значимым эндокринопатиям у подростков относят ожирение, сахарный диабет. Несмотря на то, что в ходе исследования было установлено, что у всех обследуемых подростков отсутствовал один из основных критериев метаболического синдрома – ожирение, такие его проявления как гипергликемия

и дислипидемия не всегда могут быть клинически очевидными. Динамика уровня биохимических показателей обеих групп представлена на *рисунке 9*.



**Рисунок 9 - Динамика уровня биохимических показателей у подростков основной группы и группы сравнения с 14 до 17 лет**

*Примечание* ■ - основная группа; ■ - группа сравнения; \* - статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения ( $p \leq 0,05$ ).

В уровнях ЛПВП и триглицеридов статистически значимых различий не установлено.

Из полученных данных видно, что несмотря на выявленные статистически значимые различия ряда показателей в разные возрастные периоды, средние значения исследуемых показателей укладывались в значения референтных интервалов, а снижение или превышение нормальных величин не выявлено ни у одного подростка за весь период наблюдения. Таким образом, у обследуемых подростков не зафиксировано признаков метаболических нарушений, подростки обеих групп являются метаболически здоровыми, имеют сходные метаболические показатели.

Метаболический синдром может усугублять имеющийся при варикоцеле энергодефицит в клетках герминативного эпителия и способствовать нарушению репродуктивной функции. Данное исследование позволило исключить влияние метаболических нарушений на репродуктивный потенциал подростков после варикоцелэктомии с 14 до 17 лет.

**Влияние генетических факторов на репродуктивный потенциал подростков с варикоцеле.** Обычно нарушения репродуктивной функции у мужчин с варикоцеле не связывают с влиянием генетических факторов, но предполагается, что в условиях ишемии и гипоксии экспрессия различных генов может меняться. В исследовании впервые проводилась оценка частоты встречаемости генетических факторов, приводящих к бесплодию при варикоцеле. При генетическом консультировании мужчин, страдающих бесплодием, внимание уделяется анализу кариотипа, делециям AZF -региона Y-хромосомы и мутациям гена CFTR. При оценке кариотипа у подростков с варикоцеле в 1 случае (1%) выявлено укорочение длинного плеча Y-хромосомы – кариотип 46, XYq-. Исследование локуса AZF, содержащего гены, необходимые для сперматогенеза, позволило диагностировать у трех человек из основной группы (3%) делецию sY1291. Мутация обоих аллелей гена CFTR приводит к наследственному рецессивному заболеванию муковисцидозу и нарушению сперматогенеза. В группе подростков с варикоцеле у одного человека (1%) диагностирована делеция в гене CFTR, Nmdel F508. У подростков с варикоцеле суммарно выявлено пять случаев (5%) вариантов генетических изменений, которые потенциально могут быть причиной бесплодия. Обычно мутации в указанных генах приводят к формированию олигозооспермии или азооспермии. У подростков группы сравнения изменений в кариотипе не обнаружено, все обследуемые из этой группы имели нормальный мужской кариотип 46, XY, не выявлено делеций в локусе AZF и мутаций в гене CFTR.

**Характеристика показателей эякулята подростков при варикоцеле.** Сперматогенез является сложным процессом клеточной дифференцировки, чувствительным к тепловому воздействию и лучше всего протекает при температуре на 2,5°C ниже, чем температура тела, поскольку сперматогонии и сперматиды более чувствительны к тепловому стрессу по сравнению с клетками Лейдига и Сертоли. Гипертермии при варикоцеле отводится ключевая роль в нарушении сперматогенеза. Определение показателей спермограммы является единственным способом оценить сохранность репродуктивной функции в

подростковом возрасте, ее результаты, имеющие статистически значимые различия, представлены в *таблице 1*.

**Таблица 1 - Показатели спермограммы у подростков основной группы и группы сравнения**

Показатель	Основная группа, n=100	Группа сравнения, n=30	P
Подвижность			
Категория «С», непоступательное движение, %	17,62 ± 10,58	21,27 ± 5,71	<b>p ≤ 0,015</b>
Морфология			
Дефект головки, %	57,83 ± 12,10	52,20 ± 8,49	<b>p ≤ 0,004</b>
Дефект шейки, %	17,41 ± 6,14	20,10 ± 5,76	<b>p ≤ 0,028</b>
Дефект жгутика, %	9,47 ± 4,67	12,4 ± 6,04	<b>p ≤ 0,015</b>

*Примечание: p - статистически значимые различия (p ≤ 0,05).*

Несмотря на то, что статистически значимые различия выявлены для морфологических показателей, допустимое количество клеток с измененной морфологией не превышено.

Для таких показателей как объем эякулята, концентрация и общее количество сперматозоидов, вязкость, категории быстрого и медленного поступательного движения, прогрессивной и общей подвижности, неподвижных сперматозоидов, клеток с нормальной морфологией статистически значимых различий не установлено, их значения находятся в допустимых пределах. Преобладающим из всех вариантов заключений спермограмм (нормозооспермия, астенозооспермия, олигоспермия, тератозооспермия, вискозипатия эякулята) является нормозооспермия в обеих группах обследуемых (52% и 63,3% соответственно). У подростков основной группы статистически значимо чаще была выявлена астенозооспермия (p ≤ 0,039).

Показатели спермограмм независимо от степени варикоцеле находились в пределах референтных интервалов, хотя у подростков с III степенью установлены статистически значимо более низкие показатели концентрации и общего количества сперматозоидов (p ≤ 0,025 и p ≤ 0,021), отмечены более низкие показатели прогрессивной и общей подвижности сперматозоидов и повышенные показатели непоступательного движения сперматозоидов. Морфологические параметры сперматозоидов оказались сходными для обеих групп. У подростков 2 подгруппы относительно подростков 1 подгруппы статистически значимо реже диагностировалась нормозооспермия (p ≤ 0,008).

Статистически значимые различия между подгруппами в зависимости от сроков выполнения варикоцелеэктомии выявлены в показателях морфологии – у пациентов 3 подгруппы чаще диагностированы дефекты жгутиков ( $p \leq 0,001$ ). В обеих подгруппах с одинаковой частотой диагностирована нормозооспермия, но в 3 подгруппе статистически значимо чаще зафиксирована олигоспермия ( $p \leq 0,002$ ), что, вероятно, связано с неустановившимся сперматогенезом.

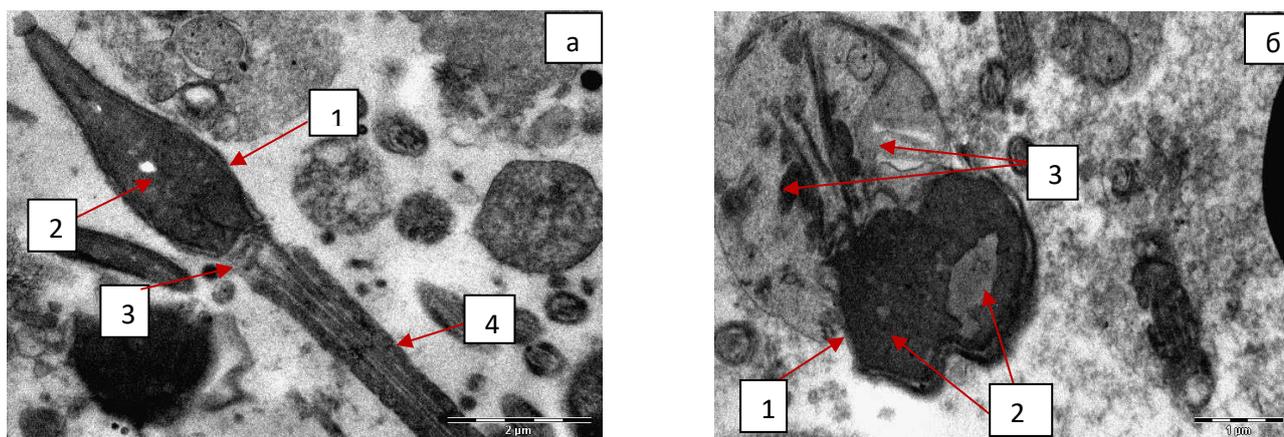
По результатам спермограммы ни в одном случае не зафиксировано азооспермии или олигозооспермии, которые могли быть обусловлены мутациями в генах AZF и CFTR, выявленных у подростков при выполнении генетического исследования, единственный случай тератозооспермии также не связан с генетическим фактором. Таким образом, влияние генетических факторов бесплодия на репродуктивное здоровье подростков также было исключено. Остается риск наследования генетических мутаций в будущем от обследованных пациентов их детьми мужского пола.

**Ультраструктурные изменения сперматозоидов при варикоцеле.** Окислительный стресс, являющийся результатом гипоксии тестикулярной ткани при варикоцеле, рассматривается в качестве основного механизма повреждения сперматозоидов на ультраструктурном уровне. В исследовании оценивалась частота выявления нормозооспермии, олигозооспермии, признаки дисплазии сперматозоидов, аномалий головок сперматозоидов, признаков повреждения ДНК, патологических изменений акросомы, аномалий структуры центриоли и сегментированных столбиков, патологических изменений митохондрий, аномалий аксонемы и фиброзной оболочки, наличия сегментоядерных нейтрофилов – статистически значимой разницы в указанных показателях между исследуемыми группами установлено не было.

В проведенном исследовании у всех подростков наиболее часто выявлены сперматозоиды, имеющие типичную ультраструктуру (*рисунок 10 а*). Нормозооспермия, под которой понимается преобладание сперматозоидов с типичной структурой головки (не менее 30% от всех просмотренных сперматозоидов), шейки и жгутика, являлась наиболее распространенным заключением в обеих группах - 57 (57%) в основной группе и 19 (63,3%) в группе сравнения. Чаще она диагностирована у подростков без варикоцеле, но статистически значимого различия не зафиксировано ( $p \leq 0,533$ ).

У подростков обеих групп были обнаружены лишь единичные сперматозоиды с различными вариантами дисплазии головок и жгутиков (*рисунок*

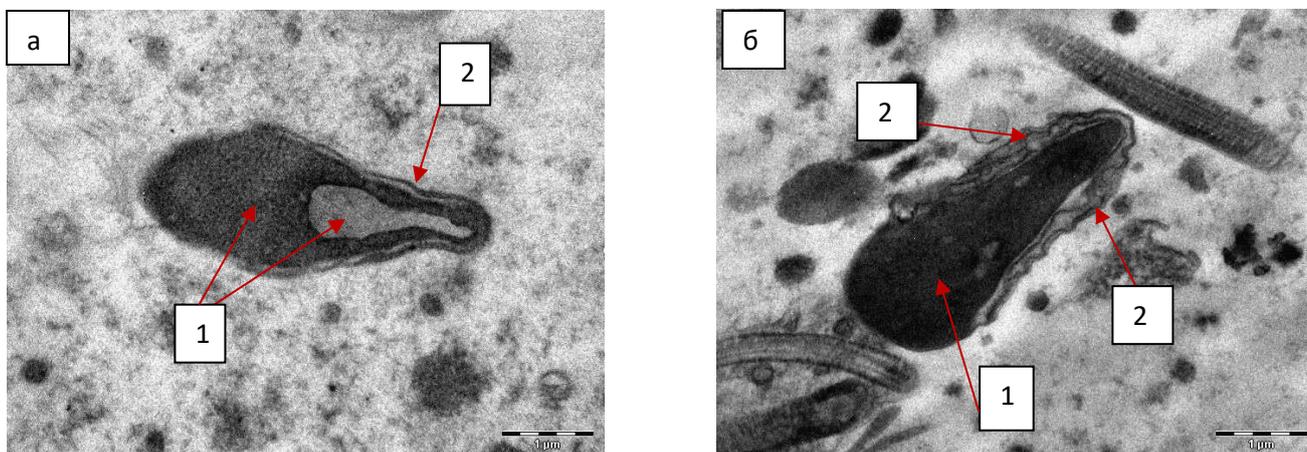
10б), основная масса клеток представлена правильно сформированными сперматозоидами.



**Рисунок 10 – Варианты ультраструктуры сперматозоидов**

*Примечание:* **а** – нормальная ультраструктура сперматозоида, типичная форма головки сперматозоида (1), зрелый, гомогенного вида хроматин (2), шейка сперматозоида (3), жгутик (4); **б** – дисплазия сперматозоида, сдвоенная anomальная головка сперматозоида (1), неконденсированный, вакуолизированный хроматин (2), цитоплазматическая капля, содержащая недифференцированный жгутик (3). ув. х 8900

Из патологических изменений в головках сперматозоидов выявлялись гранулярный, вакуолизированный хроматин (*рисунок 11а*) и некомпактное содержание акросомы (*рисунок 11б*), ее деградация.

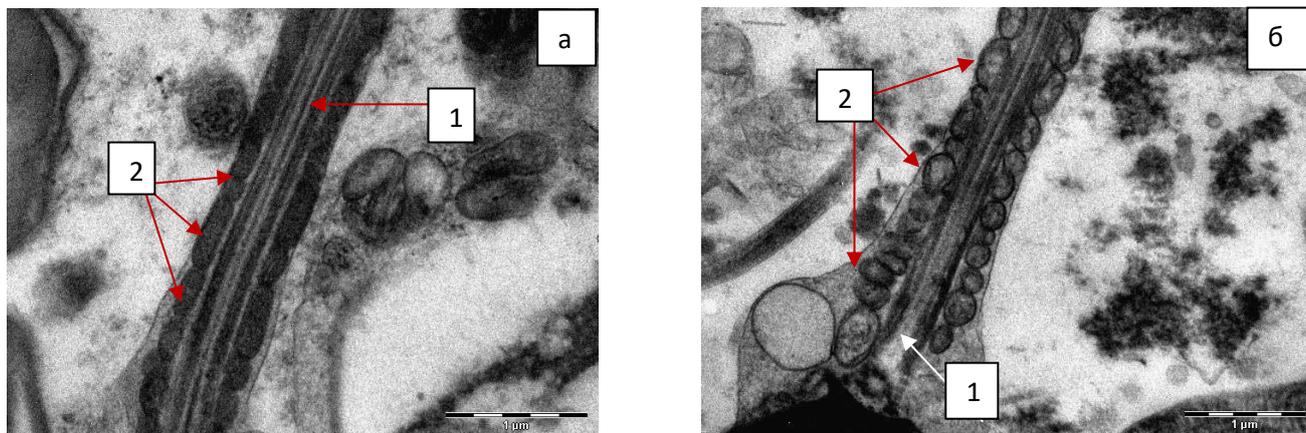


**Рисунок 11 - Головки сперматозоидов, типичная форма и размер головки сперматозоида**

*Примечание:* **а** – неконденсированный, гранулярный, вакуолизированный хроматин (1), типичная структура акросомы (2), **б** – гомогенного вида хроматин (1). некомпактное содержание акросомы (2); ув.х 14000.

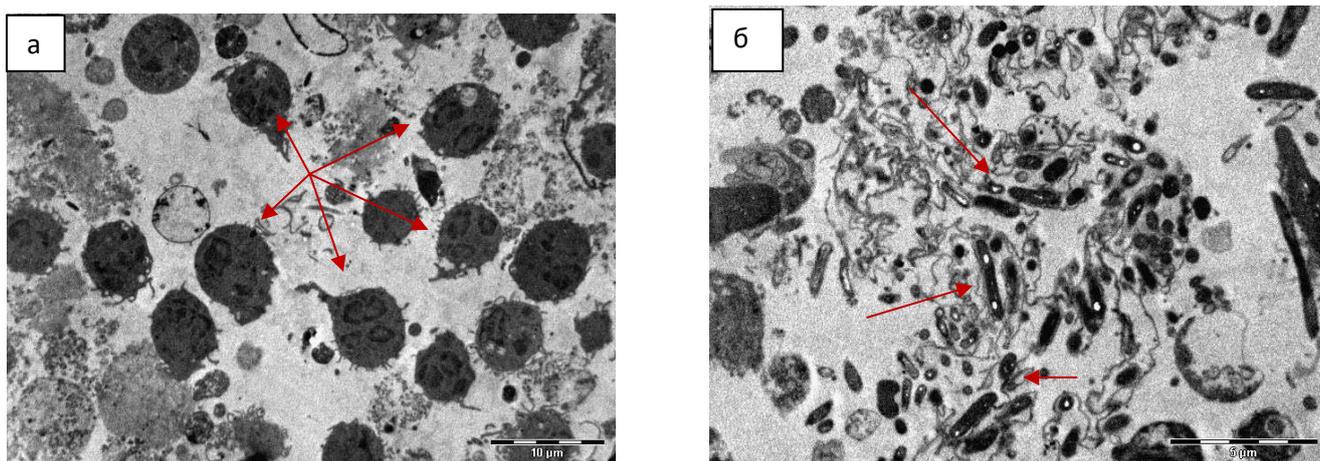
При астенозооспермии в среднем отделе жгутиков сперматозоидов в отличие от типичной структуры митохондрий (*рисунок 12а*) выявлено набухание митохондрий, деструкция крист с просветлением митохондриального матрикса

(рисунок 12б). Наличие сегментоядерных нейтрофилов, бактерий, тяжелой слизи, показано на рисунке 13.



**Рисунок 12 - Фрагмент среднего отдела жгутика**

*Примечание:* а – аксонема (1), митохондрии, имеющие типичную структуру (2); б – аксонема (1), набухание митохондрий, деструкция крист (2), ув.х 14000



**Рисунок 13 – Эякулят, обзорный снимок**

*Примечание:* а - сегментоядерные нейтрофилы в эякуляте (пиоспермия), ув. х 2200; б -адгезия бактерий на тяжах слизи, ув.х 3500.

Не установлено статистически значимых различий в частоте встречаемости патологических изменений сперматозоидов между группами, хотя у подростков с варикоцеле чаще диагностировались аномальные формы головок сперматозоидов, признаки повреждения хроматина, аномалии структуры акросомы и ее деградация. Бактерии в эякуляте статистически значимо чаще обнаружены у подростков с варикоцеле ( $p \leq 0,032$ ). В ходе исследования не было выявлено ультраструктурных изменений сперматозоидов, характерных только для варикоцеле.

Таким образом, при исследовании эякулята у подростков после оперативной коррекции варикоцеле по окончании пубертатного периода выявлен нормальный сперматогенез.

**Особенности микрофлоры эякулята подростков с варикоцеле.** В нарушении репродуктивной функции при варикоцеле могут играть роль факторы, патогенетически с ним не связанные. Таким фактором может являться бактериоспермия. Методом культивирования эякулята на питательных средах у подростков с обеих групп были обнаружены следующие виды бактерий (таблица 2). Частота выявления большинства бактерий в эякуляте культуральным методом одинакова у подростков обеих групп. У подростков с варикоцеле статистически значимо чаще выявлен умеренный рост *C. glucuronolyticum* по сравнению с подростками без варикоцеле.

**Таблица 2 - Виды бактерий, обнаруженных в эякуляте подростков (метод культивирования)**

Вид бактерий	Характер роста	Частота встречаемости		p
		Основная группа, n=100	Группа сравнения, n=30	
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> (Гр+ палочки)	«+»	6(6%)	4(13,3%)	$p \leq 0,238$
	«++»	<b>6(6%)</b>	<b>0</b>	<b><math>p \leq 0,008</math></b>
	«+++»	3(3%)	0	$p \leq 0,810$
<i>Enterococcus faecalis</i> (Гр+кокки)	«++»	3(3%)	0	$p \leq 0,810$
<i>Escherichia coli</i> (Гр-палочки)	«++»	0	2(6,6%)	$p \leq 0,147$
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (Гр+кокки)	«+»	0	2(6,6%)	$p \leq 0,147$
		Mixt		
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (Гр+кокки) / <i>Streptococcus anginosus</i> (Гр+кокки)	«+++»/	3(3%)	0	$p \leq 0,810$
	«+++»			
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (Гр+кокки)/ <i>Corynebacterium minutissimum</i> Гр+ палочки)	«+»/ед. колонии	3(3%)	0	$p \leq 0,810$
<i>Enterococcus faecalis</i> (Гр+кокки)/ <i>Escherichia coli</i> (Гр-палочки)	«++»/ «++»	3(3%)	0	$p \leq 0,810$
Итого:		27(27%)	8(26,6%)	

*Примечание:* p - статистически значимые различия ( $p \leq 0,05$ ).

Монокультуры бактерий выявлены в эякуляте обследуемых обеих групп, а ассоциации бактерий – только у подростков с варикоцеле.

По результатам бактериологического посева эякулята у подростков были выявлены следующие виды бактерий: *E.coli*, *E. faecalis*, относящиеся к основным уропатогенам, а также *C. glucuronolyticum*, *C. minitissimum*, *Str. anginosus*, относящиеся к оппортунистическим патогенам, в том числе урогенитального тракта мужчин.

Кроме того, был обнаружен *St. epidermidis*, являющийся, преимущественно, сапрофитной флорой, но может быть и оппортунистическим патогеном в определенных случаях. Роль таких микроорганизмов как *St. haemolyticus* в возможности вызвать инфекцию урогенитального тракта недостаточно изучена.

Наиболее выраженные изменения сперматозоидов выявлены при наличии в эякуляте *St. haemolyticus*, *Str. anginosus*, *C. glucuronolyticum*, когда отмечался обильный рост этих микроорганизмов на питательных средах, а также в случаях одновременного присутствия *St. epidermidis* и *C. minitissimum*, хотя зафиксирован их скудный рост.

В спермограмме в этих случаях диагностирована астенозооспермия, олигоспермия, признаки воспалительной реакции (наличие сегментоядерных нейтрофилов и тяжелой слизи). При ЭМИС обнаружены повреждения хроматина и акросомы в головках сперматозоидов, а также набухание митохондрий и деструкция крист в среднем отделе жгутиков. Как показало проведенное исследование, наиболее часто при бактериоспермии диагностируется нарушение подвижности сперматозоидов, что может быть обусловлено прямым цитотоксическим действием на сперматозоиды продуктов метаболизма бактерий и изменением в результате этого физико-химических свойств эякулята. Подвижность сперматозоидов может быть нарушена в результате контакта между пиллями бактерий и жгутиками сперматозоидов за счет усиления их адгезионных свойств, обусловленных активацией рецепторов маннозы на поверхности жгутиков. Бактериальные эндотоксины способны запускать экспрессию Toll-подобных рецепторов в мембранах сперматозоидов, вызывающих деполяризацию мембран митохондрий. Адгезия бактерий, воздействие их токсинов может приводить к разрыву мембран митохондрий как наиболее уязвимых, а также повреждению ядерной мембраны, мембраны акросомы, что и было диагностировано при выполнении ЭМИС.

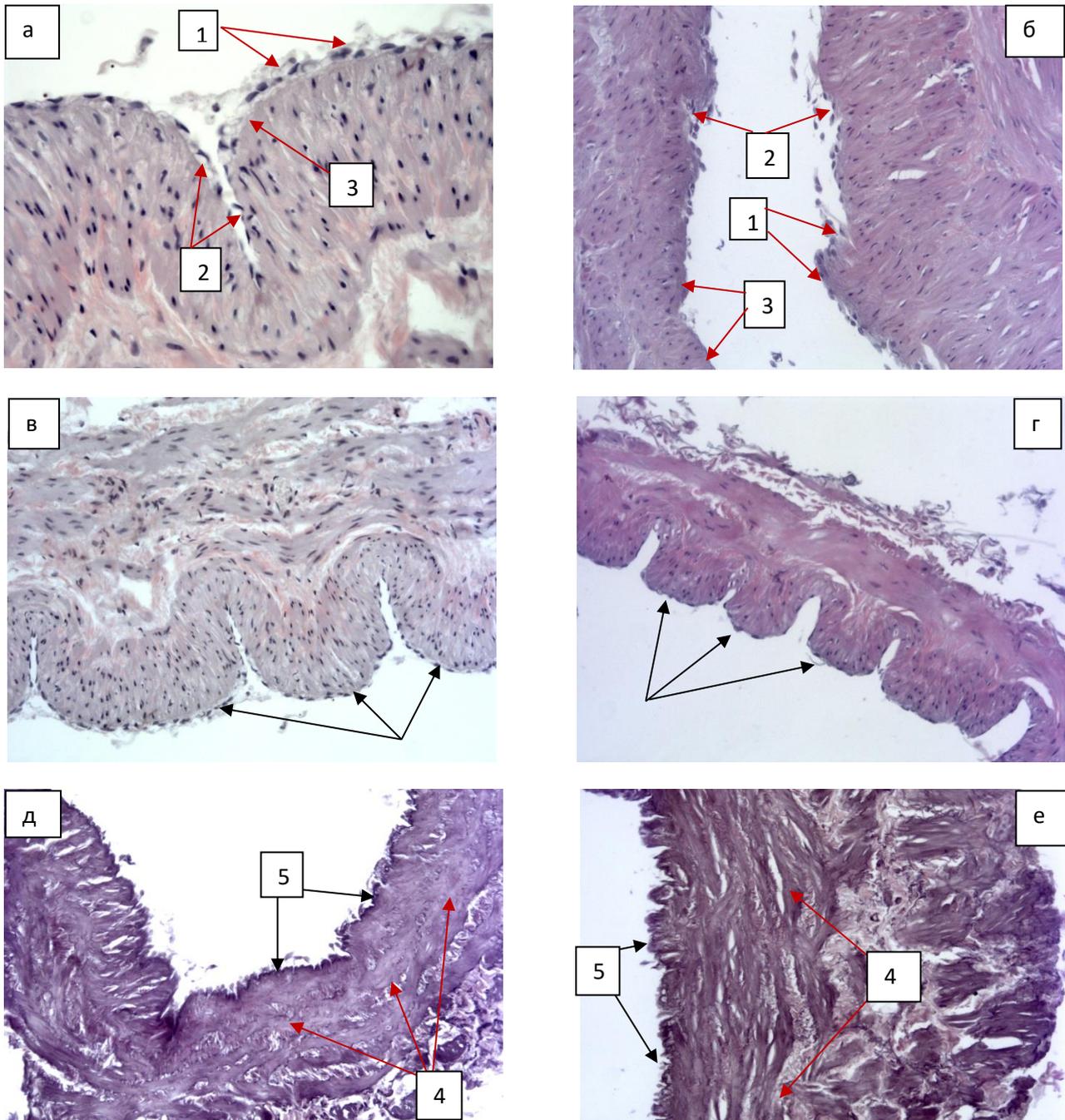
Использование культурального метода диагностики эякулята, спермограммы и ЭМИС позволило существенно увеличить выявляемость бактериоспермии (до 48 (48%) случаев в основной группе и до 12 (40%) случаев в

группе сравнения) и связанных с ней изменений параметров эякулята. У подростков с варикоцеле статистически значимо чаще при бактериоспермии диагностирована астенозооспермия (основная группа, n=48 и группа сравнения, n=12;  $p \leq 0,027$ ).

Случаи присутствия бактерий при нормозооспермии можно рассматривать как контаминацию образца эякулята бактериями. Выявлено, что у подростков основной группы наиболее часто из патологических изменений эякулята диагностирована астенозооспермия (у 24 (24 %) человек, в преобладающем количестве случаев обусловленная фактором патогенетически не связанным с варикоцеле – бактериоспермией (22 (22%) случая), вызванной микроорганизмами, относящимися к типичной микрофлоре кожи, а также к оппортунистической и условно-патогенной микрофлоре.

**Вены семенного канатика у подростков с варикоцеле (гистологический метод).** Во время оперативной коррекции в работу взят материал у 40 человек - 40 биоптатов вен (12 человек - II степень и 28 человек - III степень варикоцеле). Во всех случаях имела место дисконфлексация эндотелия различной степени выраженности, которая проявлялась утолщением эндотелиоцитов и вакуолизацией их цитоплазмы, деструктивными изменениями эндотелиальных клеток, десквамацией эндотелиоцитов, следствием чего являлась частичная или субтотальная деэндотелизация внутренней поверхности вены (*рисунок 14 а, б*). В результате десквамации эндотелия в просветах сосудов были видны скопления свободнолежащих эндотелиоцитов, фрагменты соединительнотканых волокон субэндотелиального слоя и базальной мембраны. Выявлены изменения базальной мембраны и субэндотелиального слоя. Определялась разная степень гипертрофии стенки вены, она была неравномерно утолщена и склерозирована. На фоне гипертрофии разных элементов стенки сосуда (гладких мышечных клеток, фиброзных и эластических волокон) отмечалось формирование выпячиваний по типу валиков в просвет сосуда (*рисунок 14 в, г*). В стенках вен были обнаружены гипертрофия гладких мышечных клеток и очаги склероза, отек медики (*рисунок 14 д, е*). В единичных случаях обнаружен склероз адвентиции сосудов.

Статистически значимые результаты гистологического исследования вен и частота выявленных изменений при II и III степени варикоцеле представлены в *таблице 3*.



### Рисунок 14 - Фрагмент поперечного среза вены семенного канатика

*Примечание:* **а, б** - вакуолизация эндотелиоцитов (1), частичная десквамация эндотелиоцитов (2), участки деэндотелизации (3), окр. гематоксилином и эозином; **а** - варикоцеле II ст., ув. х 400; **б** – варикоцеле III ст, ув. х 200;

**в, г** - гипертрофия гладких мышечных клеток стенки сосуда с формированием валиков различной величины в просвет сосуда, окр. гематоксилин и эозин; **в** - варикоцеле II ст., ув.х 200; **г** - варикоцеле III ст., ув.х 100;

**д, е** - склероз стенки вены (4), сглаженность внутренней поверхности сосуда (5), окр. по Ван Гизон; **д** - варикоцеле II ст., **е** - варикоцеле III ст, ув. х 200.

**Таблица 3 - Гистологические изменения стенки вен семенного канатика при II и III степени варикоцеле**

Изменения стенки вены	II степень варикоцеле, n = 12	III степень варикоцеле, n = 28	p
Вакуолизация эндотелиоцитов	6 (50%)	24 (86%)	<b>p ≤ 0,046</b>
Деструктивные изменения эндотелиоцитов	0 (0%)	13 (46%)	<b>p ≤ 0,003</b>
Изменения базальной мембраны	7 (58%)	28 (100%)	<b>p ≤ 0,002</b>
Валики стенки вены	4 (33%)	13 (46%)	<b>p ≤ 0,050</b>

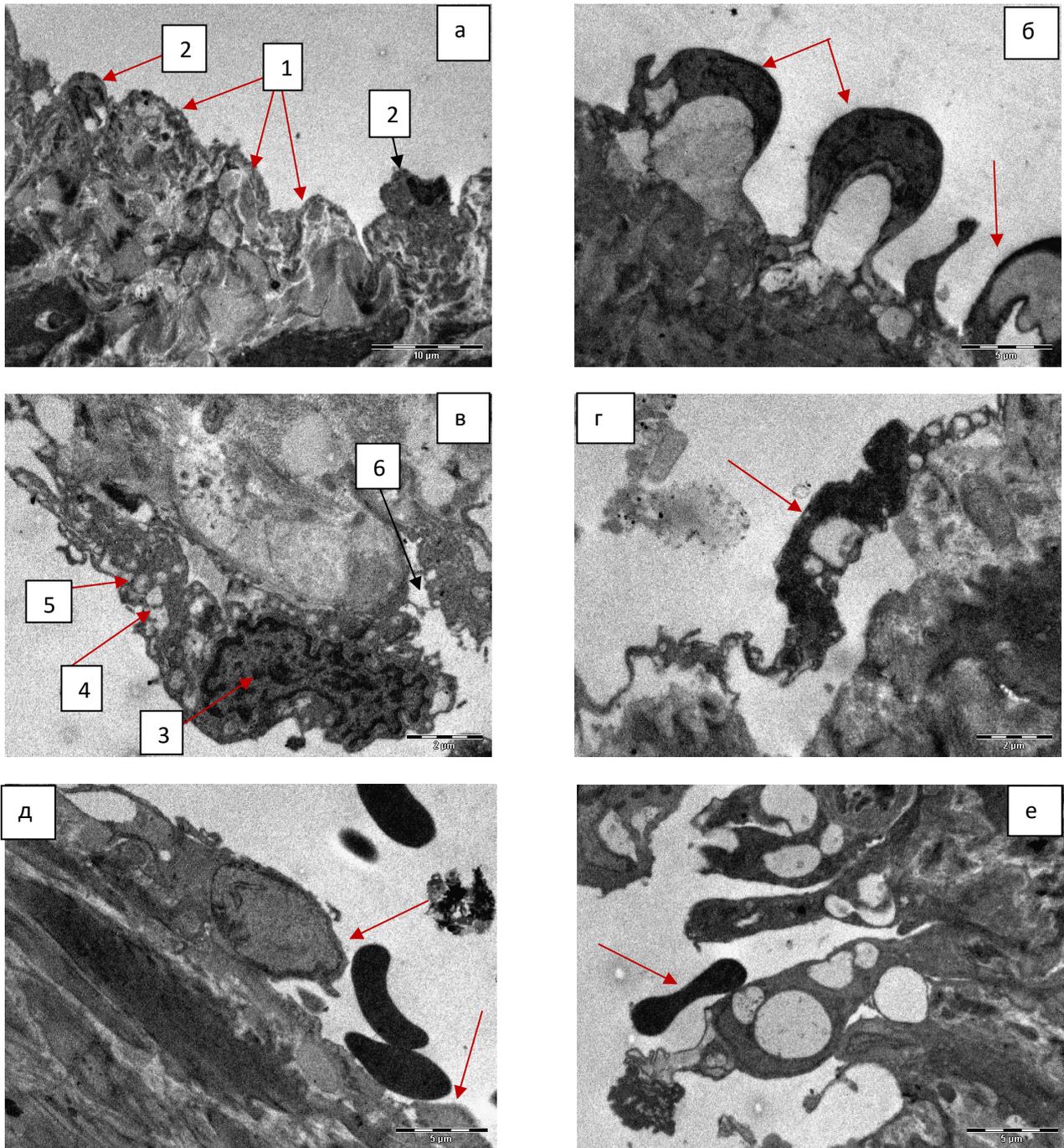
При гистологическом исследовании вен установлено, что при III степени варикоцеле статистически значимо чаще были выявлены вакуолизация цитоплазмы эндотелиоцитов и их деструктивные изменения, изменения базальной мембраны стенки вены, образование валиков.

**Ультраструктура вен семенного канатика при варикоцеле (электронно-микроскопический метод).** Материал исследован у 43 человек - 43 биоптата вен (12 человек - II степень и 31 человек - III степень варикоцеле).

В венах при варикоцеле была выявлена деэндотелизация внутреннего слоя сосудов разной степени выраженности (*рисунок 15а*). Во всех случаях (100%) выявлена дезорганизация эндотелиоцитов.

Клетки утолщены, утратили вытянутую форму, чаще наблюдалась неправильная, полигональная форма клеток, которые лишь частично прилежали к базальной мембране образуя просветы между цитоплазматической мембраной и субэндотелиальным слоем, либо прилежали одним краем, при этом тело клетки было ориентировано в просвет сосуда (*рисунок 15б*).

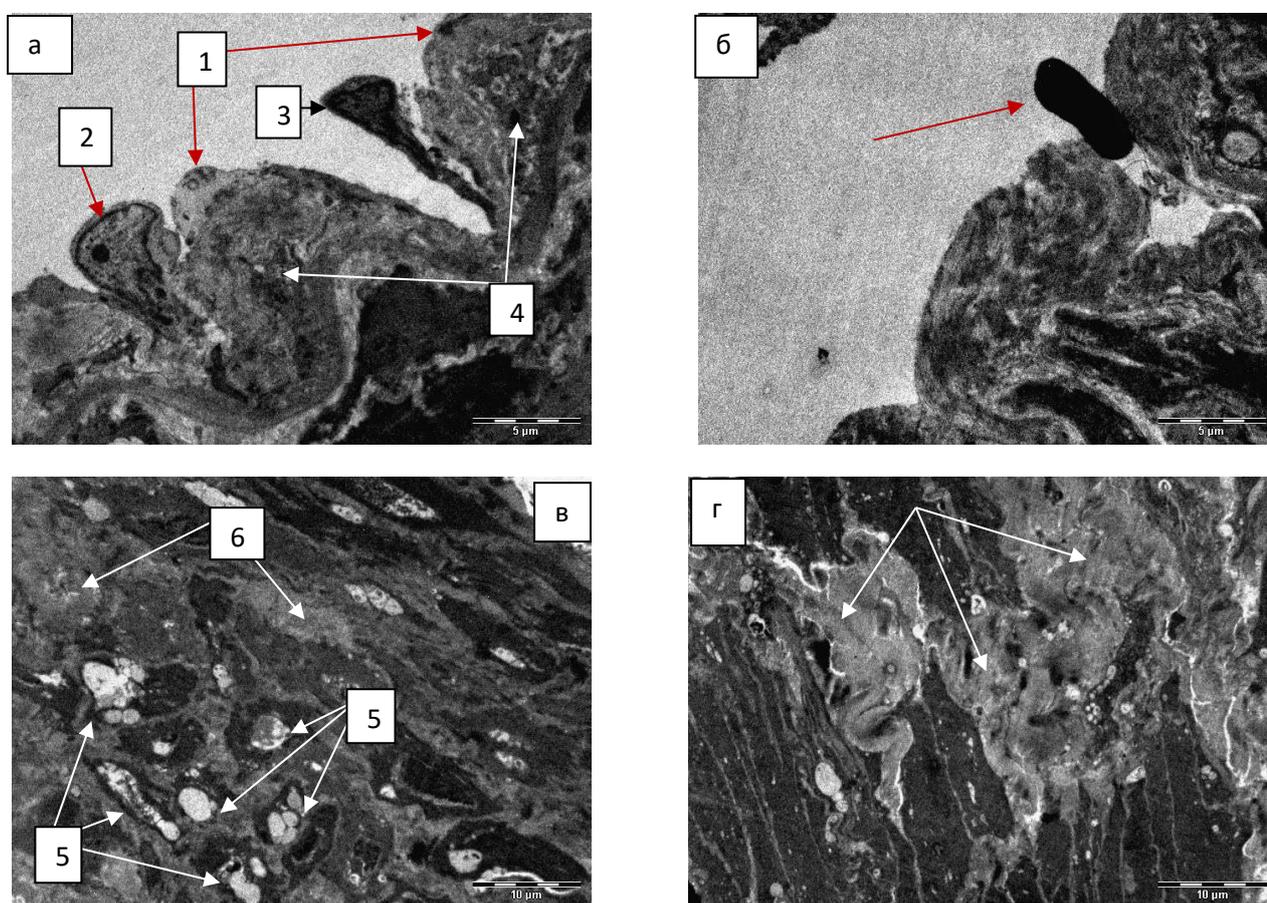
Ядра имели неправильную форму с глубокими инвагинациями ядерной мембраны, резко деформирующими ядра. Митохондрии были набухшие, с разрушенными кристами, просветленным митохондриальным матриксом (*рисунок 15в*). Отмечалась вакуолизация цитоплазмы. Были выявлены некротизированные эндотелиоциты с уплотнением и осмиофилией цитоплазмы, просматривались фрагменты клеток (*рисунок 15г*). Диагностирована адгезия тромбоцитов и эритроцитов к измененной поверхности эндотелиоцитов и субэндотелиальному слою (*рисунок 15д*), их задержка в промежутках между эндотелиальными клетками (*рисунок 15е*).



**Рисунок 15 - Фрагмент внутреннего слоя вены семенного канатика при варикоцеле**

*Примечание:* а – участок деэндотелизации (1), измененные эндотелиоциты (2), ув. х 2200; б – частичная отслойка эндотелиоцитов (показано стрелками), ув.х 3500; в – эндотелиоцит, инвагинация ядерной мембраны, деформация ядра (3), уменьшение объема цитоплазмы, вакуолизация цитоплазмы (4), набухание митохондрий (5), просвет между эндотелиоцитами (6), ув.х 7100; г – некроз и десквамация эндотелиоцита (показано стрелкой), ув.х 7100; д – адгезия эритроцитов к оголенному субэндотелиальному слою, задержка эритроцитов измененным эндотелием (показано стрелками), ув. х 3500; е – фиксация эритроцита между эндотелиоцитами (показано стрелкой), ув. х 3500.

Субэндотелиальный слой был утолщен и во всех случаях выявлены валики разной степени выраженности или неровность внутреннего слоя (*рисунок 16а*). Во всех случаях между валиками были видны углубления различной величины, в которых также фиксировались эритроциты (*рисунок 16б*), тромбоциты и деструктивно измененные, сдавленные эндотелиоциты (*рисунок 16а*). На срезах валиков обнаружены гладкие мышечные клетки с признаками деструкции или разрушенные клетки (*рисунок 16а*), отмечены разрыхление и отечность соединительной ткани. Деструктивные изменения гладких мышечных клеток проявлялись вакуолизацией цитоплазмы мелкими вакуолями либо формированием крупных перинуклеарных вакуолей (*рисунок 16в*), выявлен склероз стенок вен (*рисунок 16г*).



### Рисунок 16 - Фрагмент стенки вены семенного канатика при варикоцеле

*Примечание:* а – утолщение субэндотелиального слоя, формирование валиков (1), эндотелиоцит между валиками (2), некроз и частичная десквамация эндотелиоцита (3), деструктивные изменения гладких мышечных клеток в валиках (4), ув. х 3500; б – фиксация эритроцита между валиками (показано стрелкой), х 3500; в – деструктивные изменения гладких мышечных клеток в меди сосудистой стенки (5), утолщение соединительнотканых прослоек (6), ув. х 1800; г – массивные тяжи соединительной ткани в стенке вены (показано стрелками), ув. х 1800.

При II степени варикоцеле статистически значимо чаще выявлены участки вен с равным соотношением количества деэндоотелизированных участков и участков с эндотелием, а при III степени варикоцеле таких участков обнаружено меньше ( $n = 12$  - II степень и  $n = 31$  - III степень варикоцеле,  $p \leq 0,018$ ). Частота встречаемости остальных рассмотренных показателей ультраструктурных изменений вен в зависимости от степени варикоцеле статистически значимо не отличалась.

Сопоставление результатов светооптического и электронно-микроскопического методов исследования биоптатов вен позволило выявить однотипность изменений, но вариабельность их сочетаний в различных наблюдениях без статистически значимых различий между группами.

Проведение ультраструктурного анализа позволило более точно исследовать изменения эндотелиоцитов, выявить их деформацию, частичную или полную десквамацию, деформацию ядер, деструкцию митохондрий, обнаружить некроз клеток. Неизбежным следствием деструкции и некроза эндотелиоцитов явилась их десквамация, частичная или полная, с формированием участков деэндоотелизации, которые выявлены в венах обеих исследуемых групп. Барьерная функция эндотелия на таких участках исчезает, происходит миграция активных веществ в субэндотелиальный слой к близлежащим гладким мышечным клеткам, которые оказываются уязвимыми к таким факторам и подвергаются деструкции с последующим замещением соединительной тканью. Дегенеративные изменения субэндотелиального слоя и его утолщение с образованием валиков обнаружены во всех исследуемых венах обеих групп. Формирование валиков способствует улучшению прохождения крови по сосудам. Поэтому их образование, возможно, представляет компенсаторное явление, направленное на оптимизацию кровообращения в лозовидном сплетении. Проведенное исследование позволило выявить глубокие структурные изменения эндотелиоцитов вен лозовидного сплетения при варикоцеле, сформировавшейся в условиях повышенной гемодинамической нагрузки.

При выполнении гистологического и ультраструктурного исследования вен семенного канатика не выявлено признаков дисплазии сосудов, которая могла бы способствовать прогрессированию варикоцеле в послеоперационном периоде.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пубертатный период критичен в плане формирования иммунологической и эндокринной форм бесплодия даже при отсутствии андрологической патологии. Именно в этом возрасте гематотестикулярный барьер подвергается сложной перестройке, происходит взаимодействие иммунной системы с обилием новых антигенов созревающих сперматозоидов. В этот период устанавливается функционирование гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, происходит интенсивное изменение гормональной регуляции, обеспечивающей потенциал на репродуктивно активный период жизни, поэтому высок риск возникновения эндокринных нарушений. У подростков с варикоцеле это происходит на фоне нарушения гемодинамики яичка, сопровождающейся ишемией, гипоксией, гипертермией тестикулярной ткани, существенно усугубляющих активный процесс сперматогенеза. Оперативное лечение приводит к дополнительной травматизации сосудов, нарушению трофики гонад. Повышение уровня цитокинов на системном и локальном уровне при варикоцеле может быть обусловлено поддержанием адаптационных механизмов функционирования яичка в условиях нарушения гемодинамики. Все это требует тщательного, долгосрочного наблюдения данной категории пациентов.

Полученные в ходе исследования результаты спермограмм и ЭМИС показали, что в пубертатный период при варикоцеле устанавливается нормальный сперматогенез, подтверждающий отсутствие негативного влияния на репродуктивный потенциал подростков аутоиммунных механизмов, не выявлено гормонально-метаболических нарушений, исключено влияние генетических факторов, приводящих к бесплодию у мужчин с аналогичной патологией. Нарушение подвижности сперматозоидов в этом возрасте, выявленное у ряда подростков обусловлено повреждением структуры митохондрий жгутиков при бактериоспермии. При устранении инфекционного агента в последующих циклах сперматогенеза структура митохондрий не повреждается, нормализуются показатели подвижности сперматозоидов, что не наблюдается при нарушении дифференцировки сперматозоидов.

Сохранность репродуктивного здоровья при варикоцеле в этот возрастной период, вероятно, обусловлена парностью тестикул и компенсацией предполагаемого нарушения функции одного яичка активацией функции другого. Возможно, позитивное влияние оказывает пубертатный период. Результаты работы дали ответ на фундаментальный вопрос, является ли варикоцеле

непосредственной причиной нарушения репродуктивной функции в подростковом периоде. У подростков, имеющих из андрологической патологии только варикоцеле с выраженным морфологическим изменением вен семенного канатика, в послеоперационном периоде не происходит изменений иммунологических, гормонально-метаболических показателей и показателей спермограммы, свидетельствующих о нарушении репродуктивного здоровья в пубертатный период. В тех случаях, когда бесплодие формируется, это, вероятно, происходит в более поздний возрастной период и, возможно, уже не из-за варикоцеле, поскольку к 17 годам факторы прогрессии варикоцеле нивелируются: замедляются темпы роста, исчезает дефицит массы тела, о чем свидетельствует нормализация ИМТ. Поскольку отсутствуют признаки дисплазии вен семенного канатика и их провоспалительного статуса, устранение препятствия кровотоку после варикоцелэктомии предотвратит дальнейшую модификацию сосудов. Если рассматривать варикоцелэктомию у подростков в качестве профилактики бесплодия у взрослых мужчин, то многие подростки, как показало исследование, в ней не нуждаются, и требуется более дифференцированный подход к определению показаний к хирургическому лечению варикоцеле в этом возрасте.



**Рисунок 17 – Отсутствие влияния основных патогенетических механизмов, приводящих к бесплодию, на репродуктивное здоровье у подростков после варикоцелэктомии в пубертатный период**

## **ВЫВОДЫ**

1. Не происходит образование антиспермальных антител к сперматозоидам у подростков после хирургической коррекции варикоцеле на протяжении пубертатного периода.

2. Уровни цитокинов у подростков с варикоцеле в сыворотке крови свидетельствуют об отсутствии признаков воспалительной реакции на системном уровне, в эякуляте выявляется более высокий уровень провоспалительных цитокинов по сравнению с подростками без варикоцеле.

3. У подростков с хирургической коррекцией варикоцеле в пубертатный период отсутствуют патологические изменения гормонально-метаболических показателей, влияние генетических факторов, оказывающие негативное воздействие на репродуктивный потенциал.

4. Окончание пубертатного периода у большинства обследуемых обеих групп характеризуется нормозооспермией и наличием типичной ультраструктуры сперматозоидов; астенозооспермия выявляется при бактериоспермии, обусловленной микроорганизмами, относящимися к типичной микрофлоре кожи, а также оппортунистической и условно-патогенной микрофлоре.

5. В основе морфологической перестройки вен семенного канатика при варикоцеле лежат альтеративные (дискомплексация, десквамация эндотелиоцитов, деструктивная трансформация эндотелиоцитов и гладких мышечных клеток), компенсаторно-приспособительные (гипертрофия гладких мышечных клеток, формирование валиков) изменения, а также изменения, связанные с декомпенсацией (склероз).

6. Степень варикоцеле не оказывает существенного влияния на выраженность морфологических изменений вен семенного канатика, цитокиновый профиль сыворотки крови, функционирование гематотестикулярного барьера и эндокринную функцию тестикулярной ткани, показатели спермограммы; сроки оперативной коррекции варикоцеле не приводят к изменению показателей, отражающих репродуктивный потенциал подростков в период с 14 до 17 лет.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Подросткам с диагностированным варикоцеле и после его хирургической коррекции рекомендовано проведение ежегодных профилактических осмотров с выполнением комплекса лабораторных тестов для оценки функционального состояния гонад (определение уровня антиспермальных

антител, уровней ФСГ, ЛГ, тестостерона, эстрадиола) с целью своевременного выявления заболеваний репродуктивных органов, а также выявления репродуктивно значимых эндокринопатий (гипергликемия, дислипидемия), повышающих риск развития бесплодия в будущем.

2. Подросткам с варикоцеле в анамнезе по достижении 17 лет рекомендуется проведение анализа эякулята для принятия решения о дальнейшей тактике ведения пациента, исключения других причин нарушения репродуктивного здоровья.

3. При выявлении у подростков патологических изменений эякулята рекомендуется исключение инфекционного фактора, в том числе бессимптомной бактериоспермии, с целью своевременной санации урогенитального тракта и предотвращения прогрессирования местного воспалительного процесса, приводящего к бесплодию.

4. При выявлении у подростков в эякуляте грубых морфологических изменений сперматозоидов (тератозооспермия), снижении количества сперматозоидов (олигозооспермия), отсутствии сперматозоидов (азооспермия) рекомендовано выполнение анализа кариотипа, выявление делеций AZF -региона Y-хромосомы и мутаций гена CFTR с целью исключения генетически обусловленной формы бесплодия.

5. Рекомендованы разработка и внедрение программ, проведение мероприятий по формированию мотивации к здоровому образу жизни, информированию о методах контрацепции с целью сохранения репродуктивного здоровья подростков независимо от пола.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ (по специальностям 3.2.7. Иммунология и 3.3.3. Патологическая физиология) и/или индексируемых в международных базах данных WoS, Scopus, RSCI:*

1. Влияние степени прогрессии варикоцеле на репродуктивное здоровье подростков: [электр. ресурс] / **С.В. Пичугова**, С.В. Беляева, И.В. Рыбина, С.Ю. Комарова, В.А. Черешнев // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2023. – Т.20, № 3. - С. 64-78. (ИФ РИНЦ – 0.275, К-2).

2. **Пичугова, С.В.** Динамика показателей цитокинового статуса сыворотки крови у подростков с варикоцеле / С.В. Пичугова, Ю.Г. Лагерёва, Я.Б. Бейкин // Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25, № 1. – С.111-126. (ИФ РИНЦ – 0.699, К-1; Scopus; RSCI).

3. **Пичугова, С.В.** Оценка цитокинового профиля эякулята у подростков с варикоцеле / С.В. Пичугова, Ю.Г. Лагерева, Я.Б. Бейкин // Медицинская иммунология. – 2023. – Т. 25, № 2. – С.349-356. (ИФ РИНЦ – 0.699, K-1; Scopus; RSCI).

4. Роль генетических факторов в нарушении репродуктивной функции у подростков с варикоцеле: [электр. ресурс] / **С.В. Пичугова**, И.В. Рыбина, С.Ю. Комарова, В.А. Черешнев // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2023. – Т.20, № 3. - С. 53-63. DOI: 10.22138/2500-0918-2023-20-3-53-63 (ИФ РИНЦ – 0.275, K-2).

5. **Пичугова, С.В.** Диагностика бактериоспермии и ее влияние на показатели спермограммы у подростков с варикоцеле / С.В. Пичугова, С.М. Розанова, Я.Б. Бейкин // Клиническая лабораторная диагностика. – 2022. – Т. 68, № 8. – С.463-470. (ИФ РИНЦ – 0.484; IF Scopus – 0.7, Q-4; RSCI).

6. **Пичугова, С.В.** Ультраструктура сперматозоидов у подростков с варикоцеле // Экспериментальная и клиническая урология. – 2022. – Т. 15, № 2. – С.167-176 (ИФ РИНЦ - 0.598, K-1; RSCI).

7. **Пичугова, С.В.** Сравнительная характеристика гормонального фона у мужчин с бесплодием и у подростков с варикоцеле // Акушерство, гинекология, репродукция. – 2021. – Т. 15, № 2. – С.156-165. (ИФ РИНЦ – 0.738, K-2; Scopus).

8. **Пичугова, С.В.** Характеристика показателей спермограммы у мужчин с патологией репродуктивной сферы в возрастном аспекте / С.В. Пичугова, В.А.Черешнев, Я.Б. Бейкин // Акушерство, гинекология, репродукция. - 2021. – Т. 15, № 6. – С.715-725. (ИФ РИНЦ – 0.738, K-2; Scopus).

9. Pathogenesis of Autoimmune Male Infertility: Juxtacrine, Paracrine, and Endocrine Dysregulation / V.A. Chereshev, **S.V. Pichugova**, Y.V. Beikin, M.V. Cheresheva, A.I. Lukhta, Y.I. Stroeve, L.P. Churilov // Pathophysiology. - 2021. - № 28. - P. 471-489. (Scopus, Q-2).

10. **Пичугова, С.В.** Динамика уровня антиспермальных антител у подростков с левосторонним варикоцеле / С.В. Пичугова, И.В. Рыбина, Я.Б. Бейкин // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22, № 5. – С. 969-976. (ИФ РИНЦ – 0.559, K-1; Scopus).

11. **Пичугова, С.В.** Особенности гормонального статуса у подростков с варикоцеле / С.В. Пичугова, С.В. Беляева // Вопросы практической педиатрии. – 2020. – Т.15, № 6. – С. 42-51 (ИФ РИНЦ – 0.620, K-2; Scopus).

12. Роль антиспермальных антител в формировании infertility при варикоцеле и бесплодии / В.А. Черешнев, **С.В. Пичугова**, И.В. Рыбина, Я.Б. Бейкин // Российский иммунологический журнал. – 2020. – Т. 23, № 3. – С. 315-322 (ИФ РИНЦ – 0.318, PubMed).

13. Иммунологические аспекты мужского бесплодия / **С.В. Пичугова**, Ю.Г. Лагерева, И.В. Рыбина, Т.Л. Савинова, Я.Б. Бейкин // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т. 10 (19), № 2 (1). – С.191 - 193 (ИФ РИНЦ – 0.206).

14. Обоснование структурных изменений тестикулярных вен при варикоцеле у детей / С.Ю. Комарова, **С.В. Пичугова**, Л.Г. Тулакина, П.Л. Основин, Я.Б. Бейкин // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2016. - № 3 (58). – С.39 – 46 (ИФ РИНЦ – 0.152).

*Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ (по другим научным специальностям)*

15. Гистологические и ультраструктурные изменения вен семенного канатика у подростков с варикоцеле / В.А. Черешнев, **С.В. Пичугова**, Л.Г. Тулакина, С.Ю. Комарова, Я.Б. Бейкин // Морфология. – 2019. - Т. 156, № 4. – С.40-50 (ИФ РИНЦ – 0.801).

16. Ультраструктурные изменения эндотелия вен семенного канатика при варикоцеле у подростков / В.А. Черешнев, **С.В. Пичугова**, Л.Г. Тулакина, С.Ю. Комарова, Я.Б. Бейкин // Морфология. – 2019. - Т.155, № 3. – С.48-57 (ИФ РИНЦ – 0.801).

17. **Пичугова С.В.**, Характеристика метаболического статуса у подростков с варикоцеле / С.В. Пичугова, С.В. Беляева, Я.Б. Бейкин // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2020. – Т.16, № 4. – С.78-86. (ИФ РИНЦ – 0.363, К-2).

18. **Пичугова, С.В.** Влияние варикоцеле на показатели спермограммы в подростковом возрасте // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2022. – Т. 18, № 1. – С.73-83. (ИФ РИНЦ - 0.648, К-2).

*Публикации в других изданиях:*

19. Изменения структуры семенной вены при варикоцеле / С.Ю. Комарова, П.Л. Основин, **С.В. Пичугова**, Л.Г. Тулакина // XXVI Российская конференция по электронной микроскопии: тез. докл. (г. Зеленоград, 30 мая–3 июня 2016 г.). – Зеленоград, 2016. – С. 728 - 729.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АСАТ – антиспермальные антитела  
 ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения  
 ИФА – иммуноферментный анализ  
 ЛГ - лютеинизирующий гормон  
 ЛПВП – липопротеиды высокой плотности  
 ЛПНП – липопротеиды низкой плотности  
 ПЦР – полимеразная цепная реакция  
 ФСГ – фолликулостимулирующий гормон  
 ЭМИС – электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов  
 AZF – ген астенозооспермии  
 CFTR- ген муковисцидоза  
 IL– интерлейкины  
 TNF – фактор некроза опухоли  
 VEGF – сосудистый фактор роста  
 WHO - Всемирная Организация Здравоохранения

Пичугова

Светлана Владимировна

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ, ГОРМОНАЛЬНО- МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ,  
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В  
ОЦЕНКЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ПОДРОСТКОВ ПОСЛЕ  
ВАРИКОЦЕЛЭКТОМИИ В ПУБЕРТАТНЫЙ ПЕРИОД С 14 ДО 17 ЛЕТ**

3.2.7. Иммунология

3.3.3. Патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук