

Министерство высшего образования и науки
Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ
Уральского отделения Российской академии наук

УДК 616.697: 611.013.11

На правах рукописи

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

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:

Бейкин Яков Борисович, д.м.н, профессор, заслуженный врач РФ

Черешнев Валерий Александрович,
академик РАН, д.м.н., профессор

Екатеринбург – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

	С.
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1 – ВАРИКОЦЕЛЕ. ПРОБЛЕМА НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ПОДРОСТКОВ	14
1.1 – Иммунологические аспекты бесплодия при варикоцеле	20
1.1.1 – Антиспермальные антитела в патогенезе формирования инфертильности при варикоцеле	20
1.1.2 – Цитокины в сыворотке крови как маркер эндотелиальной дисфункции вен лозовидного сплетения при варикоцеле	27
1.1.3 – Цитокины в эякуляте как маркер локального воспалительного процесса тестикулярной ткани при варикоцеле	29
1.2 – Эндокринные аспекты бесплодия при варикоцеле	32
1.3 – Особенности метаболического статуса у подростков с варикоцеле	35
1.4 – Роль генетических факторов в формировании бесплодия при варикоцеле	37
1.5 – Исследование эякулята	41
1.5.1 – Оценка показателей спермограммы у подростков с варикоцеле	42
1.5.2 – Ультраструктурные изменения сперматозоидов при варикоцеле	45
1.5.3 – Диагностика бактериоспермии и ее влияние на показатели спермограммы	46
1.6 – Гистологические и ультраструктурные изменения вен семенного канатика при варикоцеле	49
ГЛАВА 2 – МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	52
2.1 – Иммунологические методы исследования	55
2.1.1 – Определение уровня антиспермальных антител (АСАТ)	55

2.1.2 – Определение уровня цитокинов	55
2.2 – Антропометрические исследования	56
2.3 – Гормональные исследования	56
2.4 – Биохимические исследования	56
2.5 – Цитогенетическое обследование	57
2.6 – Спермограмма	62
2.7 – Электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов (ЭМИС)	68
2.8 – Бактериологическое исследование эякулята	68
2.9 – Гистологическое и ультраструктурное исследование вен семенного канатика	70
2.10 – Статистический анализ	71
ГЛАВА 3 – РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	73
3.1 – Динамика уровня антиспермальных антител (АСАТ) в сыворотке крови у подростков с варикоцеле	73
3.2 – Содержание антиспермальных антител (АСАТ) в эякуляте у подростков с варикоцеле	77
3.3 – Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови у подростков с варикоцеле	77
3.4 – Содержание цитокинов в эякуляте у подростков с варикоцеле	85
3.5 – Характеристика соматометрических показателей у подростков с варикоцеле	88
3.6 – Эндокринный профиль подростков с варикоцеле	91
3.7 – Показатели метаболического статуса у подростков с варикоцеле	101
3.8 – Вклад генетических факторов в нарушение репродуктивной функции при варикоцеле у подростков	103

3.9 – Характеристика показателей эякулята у подростков при варикоцеле	103
3.9.1 – Показатели спермограммы	103
3.9.2 – Ультраструктурные изменения сперматозоидов	113
3.10 – Особенности микрофлоры эякулята	119
3.11 – Морфология вен семенного канатика при варикоцеле	126
3.11.1 – Гистологические изменения вен	126
3.11.2 – Ультраструктурные изменения вен	130
Список работ, опубликованных по материалам 3 главы	145
ГЛАВА 4 – ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ. ОЦЕНКА РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ПОДРОСТКОВ ПОСЛЕ ВАРИКОЦЕЛЭКТОМИИ С 14 ДО 17 ЛЕТ	148
Список работ, опубликованных по материалам 4 главы	179
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	181
ВЫВОДЫ	193
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	194
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	195
ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ	236

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Фертильность является одной из наиболее важных и сложных биологических функций, реализуемых человеком [1, 31]. На современном этапе бесплодие представляет собой новую глобальную проблему здравоохранения во всем мире [50, 119, 126, 304]. Согласно статистическим данным последних лет только мужской фактор является причиной бесплодия в 20-30 % случаев, а еще в 20-30 % случаев мужское бесплодие сочетается с женским и, таким образом, на долю мужского фактора бесплодия может приходиться уже примерно 50 %, а по некоторым данным и до 70 % случаев в мире [31, 50, 90, 119, 304]. В Российской Федерации одной из острых социальных и медицинских проблем в течение последних десятилетий остается критическая демографическая ситуация, характеризующаяся падением коэффициента рождаемости и прогрессирующее снижение фертильного потенциала мужчин [24, 66]. К проблеме мужского бесплодия долгое время не относились с должным вниманием, часто не считая его заболеванием. В последние десятилетия была существенно переосмыслена роль мужского фактора в структуре бесплодного брака, поскольку неуклонно увеличивается количество мужчин с нарушенной фертильностью, о чем свидетельствуют неблагоприятные демографические показатели России и многих стран мира [2, 90]. Патогенез мужского бесплодия носит полиэтиологичный характер и, как правило, является результатом сочетанного воздействия целого ряда факторов, таких как врожденные и приобретенные аномалии органов мочеполовой системы, инфекционно-воспалительные заболевания, эндокринные нарушения, генетические аномалии, иммунологические факторы, ожирение, хронические системные заболевания, стресс, образ жизни, воздействие неблагоприятных условий на рабочем месте [1, 66, 90, 120, 287]. На фоне высокой смертности лиц мужского пола трудоспособного возраста растет количество мужчин с заболеваниями репродуктивной системы [4]. Тревогу вызывает и тот факт, что с каждым годом увеличивается количество мальчиков, страдающих

различными формами патологии репродуктивной системы, а значит, основа бесплодия закладывается уже в различные периоды детства, отрочества, юношества [54, 58, 60]. В качестве одной из наиболее распространенных причин мужской инфертильности рассматривается варикоцеле – аномальное расширение вен семенного канатика, пик диагностики которого приходится на пубертатный период развития мальчиков в возрасте 14-15 лет [123, 149, 150, 301, 354].

Воздействие варикоцеле на функцию яичка в детском и подростковом возрасте изучено недостаточно, неясно его влияние на дальнейшую фертильность, поскольку основная масса исследований проводилась в группе взрослых мужчин с диагностированным бесплодием, и варикоцеле рассматривалось как его причина [122, 155, 249]. Подростки с варикоцеле представляют крайне неоднородную группу, поскольку 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 [144, 249, 330].

С конца 70-х годов прошлого века наступил период, когда показанием к варикоцелэктомии стало не бесплодие, а наличие варикоцеле, хирургическое лечение назначается по факту диагностирования варикозного расширения вен семенного канатика и варикоцеле вошло в список обязательного оперативного лечения в нашей стране [12].

В детском возрасте пациенты с варикоцеле тщательно не обследуются, а с необходимым для проведения операции минимумом анализов поступают в хирургический стационар, где в кратчайшие сроки им проводится операция, и они выписываются домой. Считается, что проводить обследование детей и подростков нецелесообразно по ряду причин:

- 1) в любом случае детей и подростков принято лечить оперативно;
- 2) детских хирургов, как правило, не интересует, будет ли их пациент в будущем отцом или нет;
- 3) обследование довольно дорого;
- 4) взрослые хирурги сталкиваются с далеко зашедшими последствиями варикоцеле, поскольку препубертатное варикоцеле может привести к уменьшению

диаметра семенных вен, гипотрофии яичек, прогрессирующему снижению количества клеток Сертоли, клеток сперматогенеза, ухудшению параметров спермы и рекомендуют более раннее оперативное лечение [57, 225, 324]. Считается, что негативные эффекты варикоцеле, даже после варикоцелэктомии, являются долгосрочными и неуклонно прогрессирующими, что может привести к развитию бесплодия в последующие годы [94].

Кроме того, высокая распространенность варикоцеле именно у бесплодных мужчин, также не предполагает проведения тщательного обследования [132, 289]. Хирургическое лечение варикоцеле у подростков выступает гарантом профилактики бесплодия у мужчин настолько бесспорным, что послеоперационная оценка сохранности функции гонад не проводится. Между тем, 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 [348]. После проведения операции родители успокаиваются и не придают значения периодическим консультациям детей и юношей у урологов и эндокринологов [88]. В то же время, 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 и в настоящее время нельзя предсказать у кого из подростков возникнут андрологические проблемы в будущем [32, 48, 85, 285]. В целом, хороший анатомический результат оперативного лечения варикоцеле не гарантирует улучшения функционального состояния гонад в послеоперационном периоде, многими исследователями отмечается

кратковременность положительного эффекта такого лечения [94]. 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.

Необходимы четкие параметры, чтобы определить «рискованные» случаи варикоцеле, которые действительно нуждаются в лечении; уровень и качество отбора больных для оперативного лечения должны повыситься, стать более индивидуализированными, в основе должен лежать дифференцированный подход к каждому конкретному пациенту, основанный на тщательном исследовании целого ряда факторов [57, 98, 111, 144, 145, 178, 269]. Остаются вопросы для дальнейшего исследования, чтобы лучше понимать влияние варикоцеле у подростков на мужское здоровье и мужскую фертильность [155].

Вышеизложенные факты свидетельствуют о том, что проблема нарушения репродуктивной функции в подростковый период практически не изучена. Патологические механизмы нарушения репродуктивной функции, выявленные у мужчин, экстраполируются на детей и подростков без учета того, что они происходят на фоне возрастных изменений, особенностей образа жизни, наличия вредных привычек. 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 работы: 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 за 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.
6. Оценить влияние степени варикоцеле, сроков оперативной коррекции на исследуемые показатели.

Научная новизна работы. 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.

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).

Апробация материалов диссертации и публикации. 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» (Екатеринбург,

2022); VI Научно-практическая конференция с международным участием «Современные реалии и качество жизни пациента с рекуррентными респираторными заболеваниями Персонафицированный подход к диагностике и лечению» (Москва, 2022); XVII Конгресс с международным участием «Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения» (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).

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.

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.

Структура и объем 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 использованной литературы. Диссертация иллюстрирована 20 рисунками, 37 таблицами. Библиография включает 373 источника, из них 94 отечественных и 279 зарубежных.

ГЛАВА 1 - ВАРИКОЦЕЛЕ. ПРОБЛЕМА НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ПОДРОСТКОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Варикоцеле – это комплекс венозной патологии, поражающей лозовидное сплетение семенного канатика, вены которого становятся аномально расширенными и извитыми, рассматривается как частный случай флебопатии [122, 249, 256, 371]. Распространенность варикоцеле составляет 0,8 % среди мальчиков 2-6 лет, 1 % - в возрасте 7-10 лет, 6-8 % - в возрасте 11-14 лет и 14-19% - в возрасте 15-19 лет [122, 135, 249]. Варикоцеле является частой андрологической патологией [235, 271], рассматривается как наиболее распространенный фактор риска развития мужского бесплодия [95, 225, 365], но в то же время успешно корректируемый хирургически [142, 194, 245, 293, 355].

Резкое увеличение заболеваемости варикоцеле именно в период полового созревания связывают с ускоренным ростом в целом и увеличением объема кровотока во время роста яичек [13, 40].

Первые упоминания изменений вен лозовидного сплетения мошонки связаны с именами Цельса и Галена в I н.э., а впервые термин «варикоцеле» был введен британским хирургом Т.Б. Керлингом в 1843 году [99, 205, 276, 344]. Более 150 лет прошло с момента первого доклада о варикоцеле в XVIII веке, выполнено множество исследований, опубликованы тысячи статей, но до сих пор нет предмета более спорного, чем влияние варикоцеле у детей и подростков на будущую фертильность.

В формировании варикоцеле, помимо анатомической особенности венозной системы яичек, не исключается и участие врожденной неполноценности яичковых вен ввиду их сложного формирования в эмбриогенезе, а также возможной дисплазии соединительной ткани в стенке сосудов [40]. Патогенез венозных заболеваний сложен и недостаточно изучен, и на современном этапе принята мультифакторная теория этиологии и патогенеза варикоцеле [33, 274, 371].

В случае варикоцеле формируется нарушение венозного оттока по левой почечной вене [33, 371]. В результате затруднения оттока крови по измененным венам происходит ухудшение внутритестикулярного кровотока, приводящее к патологическим изменениям ткани яичка, обусловленных гипертермией, ишемией, гипоксией, накоплением активных форм кислорода и развитием окислительного стресса [27, 210, 284, 321].

Несмотря на то, что варикоцеле в андрологической практике известно довольно давно, но, тем не менее, механизмы, лежащие в основе негативного воздействия на мужскую фертильность, по-прежнему в значительной степени неизвестны [57]. При варикоцеле выделяют несколько патофизиологических механизмов, приводящих к нарушению сперматогенеза. К ним относятся гипертермия яичек, рефлюкс в семенную вену токсических метаболитов почек и надпочечников, венозный застой и увеличение гидростатического давления в семенной вене, гипоксия и ишемия тканей яичек, приводящая к их атрофии, образование антиспермальных антител (АСАТ), развитие окислительного стресса, вызывающего фрагментацию ДНК сперматозоидов, нарушение их подвижности и приводящего к апоптозу половых клеток, эндокринные и метаболические нарушения, развитие местной воспалительной реакции, сопровождающейся выработкой интерлейкинов [152, 176, 180, 191, 224, 237, 268, 271, 296, 302, 317, 325].

В подавляющем количестве случаев варикоцеле у подростков протекает бессимптомно, выявляется случайно на медицинских осмотрах, но является одной из наиболее важных причин в гипотрофии/атрофии яичка, приводя к развитию в них необратимых изменений и представляя угрозу для будущей фертильности [122, 135, 144, 249]. Являясь агрессивной формой орхопатии, варикоцеле в подростковом возрасте имеет высокую степень риска исхода в инфертильность [130, 340].

В то же время, не все мужчины, страдающие варикоцеле, бесплодны, часть из них сохраняют фертильность без применения каких-либо вариантов лечения – консервативных, оперативных [57]. Поскольку лишь у части мужчин с варикоцеле страдает генеративная функция, то предполагается следующее: либо варикоцеле

усугубляет действие каких-либо неучитываемых факторов, либо варикоцеле – это гетерогенная группа заболеваний, из которых одна часть приводит к нарушению сперматогенеза, а другая не приводит [57]. Многие стороны патогенеза варикоцеле остаются неясными и до настоящего времени патофизиология варикоцеле, его связь с мужским бесплодием в полной мере не раскрыта [12]. В большинстве случаев развитие бесплодия в результате угнетения сперматогенеза при варикоцеле считается настолько несомненным, что оперативное лечение рекомендуется даже без предварительного анализа эякулята [37]. Лечение варикоцеле только хирургическое, и варикоцелеэктомия, по данным большинства исследователей, приводит к восстановлению показателей спермы в пределах референтного интервала или к заметному улучшению дооперационных показателей [111, 212, 253, 270, 278, 296, 326, 362, 363, 373]. Это привело к тому, что основное внимание уделялось хирургическому лечению варикоцеле, которые в настоящее время более изучены, чем нехирургические подходы [123, 155]. У взрослых пациентов оперативное вмешательство выполняется сразу после установления диагноза «бесплодие», при клинически очевидном варикоцеле, сопровождающемся болями, аномальными показателями спермограммы [57, 150, 187]. В подростковом возрасте показанием к хирургическому лечению варикоцеле является факт установления диагноза, иногда только по определению расширенных вен семенного канатика, а не бесплодия, и исследования каких-либо иных параметров не выполняются [12].

У детей и подростков в нашей стране варикоцелеэктомия проводится при варикоцеле II стадии по Ерохину, а также при гипотрофии яичек и болях [57, 201]. Точные диагностические критерии и показания для лечения бессимптомного варикоцеле или субклинических форм до сих пор не определены и варикоцелеэктомия по-прежнему остается лидирующей операцией в детской хирургии [12, 139]. Но с детьми и подростками не все обстоит однозначно. Зачем оперировать ребенка при отсутствии жалоб, если в последующем бесплодие может и не возникнуть? В каком возрасте оптимальнее проводить операцию? Какие показатели могут свидетельствовать о прогрессирующем ухудшении функции яичек? С другой стороны, известно, что операции по поводу варикоцеле,

проведенные в детском возрасте, не избавляют часть мужчин от бесплодия [88]. Тем не менее, варикоцеле является одним из самых распространенных хирургических заболеваний у детей [8, 48].

Поскольку причинно-следственная связь между варикоцеле у подростков и их будущее бесплодие была поставлена под сомнение, так как варикоцеле диагностируется и у мужчин с сохранной репродуктивной функцией, необходим поиск жестких критериев для варикоцелеэктомии у детей с целью предотвращения бесплодия [178, 207]. В качестве таких критериев предлагается оценка объема яичка, параметры спермограммы (концентрация сперматозоидов, подвижность и морфология), индекс фрагментации ДНК, уровень активных форм кислорода в семенной жидкости [178, 313, 314].

Уменьшение объема яичка со стороны варикоцеле относительно контрлатерального на 2 мм (20%) у взрослых пациентов является признаком формирующейся орхопатии [12]. Объем яичка может быть уменьшен, но у половины мальчиков происходит восстановление объема без терапии в период полового созревания, так называемый догоняющий рост [122, 144, 230, 249]. Важным обстоятельством, требующим хирургической активности у подростков, являются данные о степени восстановления объема тестикул после оперативного лечения варикоцеле, выполненного до 14 лет [76]. В целом, индекс атрофии яичка, диаметр вен, наличие спонтанного рефлюкса не выявили существенных различий в показателях спермограммы [269]. Поэтому уменьшение объема яичка в качестве критерия повреждения тестикулярной ткани является недостаточно специфичным, и требуется прямое исследование тестикулярной функции [76].

По мнению ряда исследователей, анализ эякулята необходим в качестве скринингового теста для выявления потенциально бесплодных подростков и молодых мужчин с варикоцеле, поскольку никакие факторы не изучены в качестве прогностических [233]. Как уже отмечалось выше, варикоцеле приводит к существенным изменениям показателей спермограммы уже в подростковом возрасте [288]. Несмотря на то, что до сих пор конкретные механизмы воздействия варикоцеле на репродуктивную функцию до конца не ясны, и отсутствует

признанный, доказанный механизм негативного влияния варикоцеле на сперматогенез, результаты ряда исследований демонстрируют ухудшение параметров спермограммы при варикоцеле [9, 10]. Огромная индивидуальная изменчивость сперматогенеза затрудняет анализ эякулята даже у взрослых мужчин [357]. У подростков, кроме этого, оценка эякулята затруднена еще по целому ряду причин. Во-первых, по данным разных авторов, из этических норм, анализ спермы можно проводить у подростков, достигших 17-летнего возраста [57, 230]. Во-вторых, разработка нормативов спермограммы у подростков затруднительна и потому не завершена. Кроме этических проблем здесь возникают проблемы «переходного возраста»: разные сроки вступления в пубертат, скорость его протекания, отсюда сложности разработки возрастных критериев [57]. Для исследования эякулята используются нормативы, разработанные ВОЗ, но это минимально допустимый уровень, а у здоровых мужчин, обычно, средние показатели гораздо выше. Поэтому критерии ВОЗ подходят для оценки фертильности отдельного пациента, но не очень подходят для оценки фертильности такой группы пациентов как подростки и юноши [57]. Трудность еще состоит в том, что варикоцеле диагностируется в возрасте 9-10 лет и неизвестно какие параметры спермы были у пациента в этом возрасте, как на них повлияло варикоцеле и проведенное оперативное лечение [57]. По результатам работ, проведенным по исследованию спермограмм у подростков с варикоцеле, выявлены олигозооспермия, астенозооспермия, что свидетельствует об отрицательном его влиянии на сперматогенез [8, 174]. Но в то же время, у части мальчиков не было зафиксировано никаких изменений в показателях спермограммы [8, 57]. Для диагностики состояния гонад при варикоцеле предлагается исследование биоптата яичка, поскольку нарушения морфологического строения семенных канальцев выявлено уже у детей и подростков [57, 326]. Некоторые исследователи считают гистологическое исследование яичка статистически значимым показателем среди таких факторов как длительность болезни, показатели спермограммы, уровни ФСГ, ЛГ, тестостерона, объем яичка [326]. По их мнению, биопсия яичка у пациентов с варикоцеле считается быстрой, минимально инвазивной процедурой, позволяет

оценить состояние сперматогенного эпителия и установить, возможно ли восстановление показателей спермограммы после варикоцелеэктомии [326]. Но в тоже время, поражение ткани яичка может быть и очаговым, и гистологическое исследование не отразит истинного состояния гонад и прогноза после операции [326]. Кроме того, для проведения биопсии яичка должны быть достаточно серьезные основания.

Как уже упоминалось, для оценки состояния гонад при варикоцеле используются эндокринологические тесты, которые значительно изменяются при этом состоянии [88]. У подростков четко прослеживается влияние половых гормонов на антропометрические показатели, а варикоцеле может привести к нарушению эндокринной регуляции онтогенеза, и это будет способствовать замедлению процесса полового созревания и развитию андрологической патологии, приводящей в итоге к бесплодию. Но анализ и интерпретация эндокринологических тестов затруднены из-за их физиологической вариабельности в подростковом возрасте [230]. Менее одной трети мальчиков будут страдать от бесплодия в зрелом возрасте, поэтому кажется чрезмерным и даже неосторожным предлагать оперативное лечение всем таким пациентам, поскольку это может привести к излишнему лечению варикоцеле у подростков [122, 145]. С другой стороны, врачам приходится использовать тактику превентивного лечения с целью сохранения функции яичка и, как следствие, сохранения фертильности при варикоцеле у детей и подростков [134, 150]. Большое количество гипотез инфертильности при варикоцеле говорит о том, что ни одна из них не является абсолютной, а полученные противоречивые данные о связи варикоцеле с бесплодием указывают на отсутствие серьезных исследований, направленных на изучение нарушения фертильности как в детском возрасте, так и у взрослых [57, 330]. Поэтому, для прогноза варикоцеле и оценки лечения требуются хорошо продуманные и правильно подобранные исследования. Проведение многомерного, крупномасштабного, долгосрочного исследования необходимо для определения диагностических критериев нарушения

репродуктивной функции у подростков с варикоцеле и для прогнозирования их фертильного потенциала в зрелом возрасте.

1.1 – Иммунологические аспекты бесплодия при варикоцеле

1.1.1 – Антиспермальные антитела в патогенезе формирования инфертильности при варикоцеле

Иммунная система играет важную роль в репродукции человека и любые изменения в этой сфере могут нарушить нормальный репродуктивный процесс, привести к бесплодию. Аутоиммунные реакции против сперматозоидов с образованием антиспермальных антител (АСАТ), которые обнаруживаются в сыворотке крови или жидкостях репродуктивного тракта, выступают одним из иммунологических факторов бесплодия у мужчин [105, 106, 130, 340, 372]. Продукция АСАТ рассматривается в качестве аутоиммунного заболевания мужской репродуктивной системы [125, 167, 265, 283]. О наличии АСАТ у бесплодных мужчин впервые сообщили Rumke и Wilson еще в 1954, и с тех пор исследователи сосредоточили на них свое внимание [286].

Активное изучение аутоиммунитета как патогенного фактора, способствующего формированию бесплодия, началось в 70-х годах прошлого века [107]. В последние десятилетия исследованию иммунологической формы бесплодия уделяется особое внимание, что связано с установлением роли АСАТ как непосредственной причины бесплодия, поскольку более высокий уровень АСАТ был диагностирован у бесплодных мужчин [83, 106, 136, 283, 318, 334]. Теперь широко распространено мнение, что неблагоприятный иммунный ответ на репродуктивную систему может привести к бесплодию, а АСАТ являются иммунологическим маркером, который учитывается при оценке нарушения фертильности [124, 368, 372]. АСАТ определяются у 10% бесплодных мужчин, а частота иммунологической формы бесплодия составляет 4,5-15 % в различных популяциях [3, 51, 83, 90, 169, 173, 191, 252, 286, 318]. Известно, что аутоиммунитет к сперматозоидам может развиваться при травмах, воспалительных процессах, особенно инфекционного генеза [74, 83, 267, 323, 334, 368], опухолях, инвазивных

процедурах, воздействиях генетических факторов, но в целом, развитие иммунологической формы бесплодия связано с любым повреждением яичка, приводящим к нарушению целостности гематотестикулярного барьера и иммунологической толерантности, что будет иметь тяжелые последствия для репродуктивной системы [23, 90, 97, 129, 218, 226, 228, 252, 286, 310, 318, 335]. Иммунологическая толерантность яичка формируется в перинатальном периоде и за нее отвечает несколько механизмов – гематотестикулярный и гематоэпидидимальный барьеры, иммуносупрессивная активность внутри яичка [216]. Полное формирование гематотестикулярного барьера, который препятствует взаимодействию антигенов сперматозоидов с лимфоцитами, начинается с образования плотных контактов между клетками Сертоли, когда первые зародышевые клетки вступают в фазу мейоза [55, 90, 216]. Клетки Сертоли, составляющие основу гематотестикулярного барьера, располагаются по длине семенного канальца и изолируют систему, в которой происходит сперматогенез [216,283]. Чувствительность сперматозоидов к аутоантителам можно объяснить очень ранним развитием толерантности иммунной системы к аутоантигенам зародышевых клеток и поздним началом созревания сперматозоидов [367]. Антигены сперматозоидов обычно не активируют иммунный ответ из-за наличия перитубулярной иммунорегуляторной системы, обеспечиваемой также гематотестикулярным барьером [283, 334]. Гематотестикулярный барьер осуществляет иммунорегуляторный паракринный контроль, который стимулирует высвобождение специфических иммунопротекторных веществ клетками Сертоли и клетками Лейдига, которые подавляют бласттрансформацию лимфоцитов и опосредованный лизис сперматозоидов [283]. Сосудистый компонент гематотестикулярного барьера состоит из эндотелиальных клеток капилляров, имеющих низкую проницаемость, что предотвращает прохождение лимфоцитов и высокомолекулярных белков, таких как иммуноглобулины, и усиливает роль барьера, препятствуя прохождению иммунных компонентов в просвет канальцев [283]. В исследованиях доказана иммуносупрессивная роль клеток Сертоли *in vitro* в подавлении активированных Т-лимфоцитов [216]. Известна и фагоцитарная

активность клеток Сертоли, которая заключается в их участии в деградации сперматозоидов и их антигенных компонентов [283]. Таким образом, иммунные механизмы яичек физиологически и иммунологически подготовлены для защиты аутоантигенов сперматозоидов от иммунного ответа «хозяина», а наличие гематотестикулярного барьера делает тестикулы иммунологически привилегированным участком, играющим ключевую роль в формировании толерантности иммунной системы к антигенам сперматозоидов [186, 218]. Кроме того, АСАТ могут продуцироваться в области придатка яичка, который защищен гемато-эпидидимальным барьером, впервые описанным Friend и Gilula в 1972 году [186]. Эпидидимис является узкоспециализированным органом, участвующим в созревании, транспортировке, защите и хранении сперматозоидов до эякуляции. Гемато-эпидидимальный барьер анатомически состоит из плотных контактов между эпидидимальными клетками, а физиологически – из определенных транспортеров, расположенных вдоль этих клеток, регулирующих движение молекул в просвет и из него, что способствует созреванию сперматозоидов и отделению антигенов сперматозоидов от клеток иммунной системы. Хотя гемато-эпидидимальный барьер физиологически более сложен, чем гематотестикулярный, анатомически он менее эффективен, что делает придатки более восприимчивыми к иммунным воздействиям по сравнению с яичками [186]. При прохождении через эпидидимис происходит созревание сперматозоидов, сопровождающееся фиксацией на нем множества белков, синтезируемых клетками придатка яичка, что, на фоне вышеизложенного, вероятно, позволяет отметить эпидидимис ключевым участком генерации АСАТ [186, 252]. Повреждение яичек, приводящее к нарушению целостности гематотестикулярного барьера, может подвергать антигены сперматозоидов взаимодействию с клетками иммунной системы, вызывая аутоиммунный ответ, включая образование АСАТ, а любой аутоиммунный ответ против сперматозоидов является причиной мужского бесплодия [186, 286, 318, 367]. Образование АСАТ у мужчин может быть связано с нарушением иммунорегуляторных механизмов или развитием патологических процессов, приводящих к тому, что антигены сперматозоидов распознаются иммунной системой как чужеродные,

сопровождается активацией гуморального иммунного ответа с последующим синтезом АСАТ и вовлечением клеточного ответа с активацией Т-лимфоцитов, высвобождением цитокинов и активацией комплемента [283].

Таким образом, иммунологическая форма бесплодия будет диагностирована в том случае, если у пациента в крови или жидкостях репродуктивного тракта будут обнаружены АСАТ, обладающие иммобилизирующими или агглютинирующими свойствами [26, 265]. К развитию аутоиммунитета приводит образование АСАТ к антигенам сперматозоидов, которые являются специфическими белками, имеющими отношение к оплодотворению и фертильности, каждый из которых имеет специфическую структуру и синтезируется разными клетками полового тракта [26, 102, 147, 275, 286]. Наиболее изученными на современном этапе являются белки YWK-II (белок экваториального сектора головки сперматозоида), BE-20 (белок придатка яичка), rSMP-B (спермальный хвостовой антиген), BS-17 (кальпастатин), ACTL7a, BS – 63 (нуклеопротеин семенника), HED – 2 (компонент клеток Сертоли), EP – 20, NASP (аутоантигенный ядерный белок), FA-1 (специфический антиген оплодотворения), YLP12, HSP 70 и HSP 90 (белки теплового шока) и многие другие [26, 102, 147, 216, 283]. Антигены сперматозоидов локализуются на головке, интраакросомально, на жгутике и регулируют подвижность сперматозоидов, обеспечивают капацитацию, акросомальную реакцию [26, 306].

АСАТ (IgA, M, G) обнаруживаются в сыворотке крови и эякуляте (кроме Ig M), поскольку эти крупные молекулы не могут попасть из кровотока в семенную плазму, а также фиксироваться на сперматозоидах [95, 97, 128, 252, 283, 318, 372]. Кроме того, АСАТ могут быть подразделены на поверхностные и внутренние антигены сперматозоидов [216]. IgA и IgG могут пассивно диффундировать в половые пути, но IgA могут активно секретироваться половыми клетками. Эпителиальные клетки производят секреторный компонент, который действует как регуляторный транспортный белок для IgA, образуя с ним комплекс, который проникает в просвет канальца и там высвобождает его. Антигенные эпитопы больше связываются с локальными IgA, чем с IgG у бесплодных мужчин, а также

IgG имеют более низкий уровень реактивности против антигенов сперматозоидов [283]. АСАТ IgA могут и не обнаруживаться в сыворотке крови, однако их локальное присутствие в секрете генитального тракта может приводить к нарушению функции сперматозоидов [216]. Предполагается, что при прочном связывании антител со сперматозоидами, они могут и не обнаруживаться в семенной плазме [26]. Степень нарушения фертильности при рассматриваемом варианте бесплодия будет определяться классом антител, их количеством в секрете, плотностью покрытия ими поверхности сперматозоида и местом локализации на нем [90, 286]. Независимо от типа АСАТ, они могут фиксироваться на разных участках сперматозоида и иметь специфичность для определенной области или для всей поверхности клетки. Обычно антитела, реагирующие с поверхностными антигенами сперматозоидов, являются агглютинидами или иммобилизидами и предполагают разные варианты агглютинации (головка+головка, головка+жгутик, жгутик+жгутик) [283]. Предположительно, клиническое значение будут иметь те АСАТ, которые взаимодействуют с антигенами мембран жизненно важных участков сперматозоида [216]. Так, присоединение антител к жгутику сперматозоида приведет к нарушению его подвижности, в то время как фиксация на головке обусловит нарушение проникновения сперматозоида в цервикальную слизь [216, 283]. Антитела, связанные с акросомной областью, могут мешать акросомальной реакции, приводить к окклюзии рецепторов, необходимых для прикрепления к прозрачной оболочке ооцита, препятствуя оплодотворению [283]. Фиксация АСАТ на сперматозоидах может не только приводить к агглютинации и иммобилизации [265, 334], но и оказывать прямой цитотоксический эффект при участии комплемента и макрофагов, поскольку некоторые АСАТ в сперме связаны с комплемент-зависимыми антителами [90, 171, 318]. Связывание IgG и белков комплемента инициирует С-3-опосредованное взаимодействие сперматозоидов с полиморфно-ядерными нейтрофилами и инактивацию сперматозоидов посредством образования комплекса мембранной атаки (МС5b-9) комплемента. Цитотоксические антитела, особенно в семенной плазме, могут вызывать

преждевременную акросомальную реакцию, поскольку на акросоме, как мембранной структуре, сконцентрировано большое количество антигенов [216, 283, 367]. К иммунологическому бесплодию могут привести и комбинированные эффекты различных АСАТ к различным компонентам сперматозоидов [216].

Отмечено, что качество спермы существенно ухудшается при наличии АСАТ [172]. Влияние АСАТ на репродуктивную функцию, как уже отмечалось, может быть реализовано различными путями: нарушение сперматогенеза, агглютинация сперматозоидов, снижение подвижности, ухудшение проникновения сперматозоидов в цервикальную слизь, нарушение акросомной реакции, препятствие оплодотворению яйцеклетки, нарушение имплантации эмбриона и его раннего развития [53, 90, 105, 127, 128, 130, 186, 191, 265, 283, 310, 316, 340]. Небольшое количество пациентов с наличием АСАТ не позволило получить статистически достоверные результаты значимости изотипов антител для формирования бесплодия у мужчин, а также не была установлена связь бесплодия с титром АСАТ, возрастом мужчин, количеством сперматозоидов [216, 283].

Почти в каждой работе по исследованию влияния аутоиммунитета на фертильность мужчин приводятся сведения о противоречивости влияния АСАТ на репродуктивную функцию. До сих пор нет точных данных о наличии АСАТ у мужчин и вызванном ими бесплодием [127, 318]. В ряде случаев указывается, что, несмотря на установленную корреляцию между наличием АСАТ и бесплодием, они не всегда могут отрицательно влиять на фертильность [218]. Многие исследователи не обнаруживают статистически значимой разницы в параметрах спермы у мужчин с АСАТ и без антител к антигенам сперматозоидов [286]. Кроме того, АСАТ нередко обнаруживают у фертильных мужчин, и многие исследователи не считают наличие антител к сперматозоидам причиной бесплодия.

АСАТ-опосредованное бесплодие следует заподозрить, если агглютинация сперматозоидов, нарушение подвижности диагностируются в анализе спермы при отсутствии лейкоцитоспермии и инфекции [216, 283].

Одним из механизмов infertility при варикоцеле рассматривается развитие иммунологической формы бесплодия, которая связана с нарушением

целостности гематотестикулярного барьера и образованием антиспермальных антител (АСАТ), определяемых в сыворотке крови и эякуляте у мужчин [90, 228, 252].

При иммунологическом варианте бесплодия степень нарушения фертильности будет определяться классом АСАТ, их количеством в секретах, плотностью покрытия ими поверхности сперматозоидов и местом локализации на нем [90, 129]. АСАТ часто выявляются у пациентов с варикоцеле, по данным разных источников в 25-40 % случаев [129, 130, 335, 340]. Предполагается, что варикоцеле не является непосредственной причиной аутоиммунной реакции против сперматозоидов, а выступает в качестве кофактора, повышающего риск развития иммунологического бесплодия [25, 106, 108, 130, 246, 316, 335, 340]. Повреждение гематотестикулярного барьера при варикоцеле обусловлено гипертермией, ишемией тестикулярной ткани, приводящими к изменениям обменных процессов в яичке, нарушению транспорта воды, лактата и других веществ в клетках Сертоли [108, 130, 335]. Кроме того, при варикоцеле установлено снижение экспрессии Е-кадгерина и альфа-катенина в местах соединения клеток Сертоли, что может также привести к повышению проницаемости гематотестикулярного барьера и выработке АСАТ [335]. Логично предположить, что более тяжелая степень варикоцеле приведет к более выраженным изменениям тестикулярной ткани и, следовательно, к более высокой вероятности развития иммунологической формы бесплодия.

Дискуссионным остается вопрос о влиянии хирургической коррекции варикоцеле на уровень АСАТ. Ряд авторов считают, что улучшение гемодинамики яичка в результате операции должно привести к уменьшению уровня АСАТ [335, 356]. Другие авторы придерживаются мнения, что операция на репродуктивных органах либо никак не влияет на уровень АСАТ, либо сама может спровоцировать развитие аутоиммунных реакций против сперматозоидов [30, 70, 128, 246, 372]. В настоящее время отсутствуют сведения об оценке степени травматизации гематотестикулярного барьера при выполнении оперативной коррекции

варикоцеле, которая вполне может привести к развитию неинфекционного орхита с последующим формированием аутоиммунной реакции [84].

Несмотря на обилие проводимых исследований, на современном этапе нет однозначного ответа на вопрос о распространенности иммунологической формы бесплодия у инфертильных мужчин и у подростков с варикоцеле, имеющих высокую степень риска развития бесплодия в будущем. Поэтому у подростков с варикоцеле в качестве одного из прогностических критериев возможного бесплодия важно не только определение уровня АСАТ в сыворотке крови и эякуляте, но и оценка их уровня в динамике в послеоперационном периоде, в зависимости от степени варикоцеле.

1.1.2 – Цитокины в сыворотке крови как маркер эндотелиальной дисфункции вен лозовидного сплетения при варикоцеле

В случае варикоцеле происходит нарушение венозного оттока по левой почечной вене, повышение гидростатического давления приводит к несостоятельности тонуса стенки яичковой вены. Гладкомышечный слой вен и венул тоньше и менее организован, чем у артерий и артериол, поэтому стенки вен отличаются меньшей жесткостью и неспособностью поддерживать возросший объем крови, развивается клапанная венозная недостаточность и дилатация венозной системы [5, 40, 371]. Вазодилатация требует целостности не только эндотелиального слоя, но и самих эндотелиоцитов, а их повреждение в результате гидродинамического стресса является пусковым механизмом развития воспалительной реакции и продукции цитокинов [42, 109, 254].

К важнейшим функциям эндотелия относятся поддержание гемоваскулярного гомеостаза, регуляция гемостаза. Эндотелиальные клетки вовлечены во многие важные физиологические процессы, включая обмен молекулами, контроль вазомоторного тонуса и проницаемости, экстравазацию клеток крови, поддержание гомеостаза тканей и органов за счет синтеза и секреции большого количества биологически активных веществ, в том числе цитокинов, которые действуют как ангиокрины [46, 82, 199, 258, 260, 349].

Существует два варианта секреции эндотелием биологически активных веществ – базальная (постоянная), и стимулированная, когда выделение этих веществ происходит в ответ на стимуляцию или повреждение эндотелиоцитов [33, 46]. Увеличение секреции и продукции цитокинов эндотелиальными клетками и формирование их провоспалительного состояния наблюдается при изменении скорости кровотока в условиях дистальной ортостатической флебогипертензии, сопровождающейся высоким венозным давлением, гемодинамическим стрессом и гипоксией, что может приводить к альтерации эндотелиоцитов [33, 42, 46, 82, 109, 371].

Кроме того, повреждение эндотелия способствует обнажению коллагена, адгезии лейкоцитов, активированию макрофагов и их экстравазации, что приводит к активной продукции цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α этими клетками [5, 42, 109, 203, 210, 258]. Провоспалительные цитокины оказывают выраженное повреждающее действие на эндотелиальные клетки, приводя к формированию эндотелиальной дисфункции и хронического воспаления [5, 109, 146, 158, 184, 203, 254].

Хроническое воспаление, в свою очередь, усиливает функцию эндотелиальных и тканевых клеток, способствует увеличению секреции провоспалительных цитокинов, активации лейкоцитов и макрофагов, разрушению внеклеточного коллагенового матрикса, активации протеолитических ферментов, формированию фиброза, миогенной модификации сосуда с последующей дилатацией [14, 87, 109, 258]. Феномен ремоделирования сосудов заключается в неконтролируемой пролиферации гладких мышечных клеток, эластических волокон сосудистой стенки, приводит к удлинению, извитости сосуда и представляет адаптивную реакцию на регионарную гипертензию и гипоксию, и ведущую роль в этом процессе может играть эндотелиальная дисфункция [33, 46, 82]. Ангиогенез является важной характеристикой воспалительных заболеваний, и механизмы, контролируемые ангиогенез и воспаление, используют многие общие факторы, включая IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α , которые могут вызывать как воспалительную, так и ангиогенную активность [258]. Также при эндотелиальной дисфункции в ряде

исследований было отмечено увеличение продукции VEGF – сосудистого фактора роста, который совместно с цитокинами может способствовать венозной мальформации и ангиогенезу за счет стимуляции пролиферации гладких мышечных клеток, ремоделированию существующих и образованию новых сосудов [5, 82, 258, 371].

Проявление признаков воспаления обусловлено действием провоспалительных цитокинов: IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α и противовоспалительных цитокинов: IL-4, IL-10, баланс между которыми жестко регулируется [79, 80, 82, 109]. И хотя цитокины действуют, преимущественно, местно и кратковременно, избыточность системы цитокинов проявляется в том, что каждый тип клеток способен продуцировать несколько цитокинов и каждый цитокин может секретироваться различными клетками, а измерение содержания цитокинов в сыворотке крови представляет одну из потенциальных возможностей оценки воспалительной реакции и эндотелиальной дисфункции [79].

1.1.3 – Цитокины в эякуляте как маркер локального воспалительного процесса тестикулярной ткани при варикоцеле

В результате затруднения оттока крови по измененным венам происходит нарушение внутритестикулярного кровотока, приводящее к патологическим изменениям ткани яичка, обусловленным гипертермией, ишемией, гипоксией, накоплением активных форм кислорода и развитием окислительного стресса [27, 210, 284, 321]. В целом, предполагается, что все эти процессы приводят к формированию воспалительной реакции в тестикулярной ткани, которая будет сопровождаться изменением уровня цитокинов в семенной жидкости, поскольку они являются маркерами воспалительного процесса, играющего важную роль в патогенезе варикоцеле [41, 189, 227, 254, 280, 284].

Семенная плазма содержит многочисленные белки, молекулы, в том числе и широкий спектр различных цитокинов, хемокинов, факторов роста, от свойств и уровня которых во многом зависят этапы посттестикулярного созревания сперматозоидов [52, 310]. Накоплены данные о том, что всеми компартментами

половых путей мужчины, а также соматическими клетками Лейдига, клетками Сертоли, перитубулярными клетками производится огромное количество цитокинов, таких как IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-4, IL-10 и многих других, участвующих в сперматогенезе, регулирующих функционирование яичка, пролиферацию зародышевых клеток и незрелых клеток Лейдига, модулирующих функции зрелых клеток Лейдига, способных влиять на все аспекты репродуктивной физиологии и, следовательно, являющихся нормальными компонентами семенной плазмы [164, 196, 204, 282, 305]. Таким образом, цитокины являются частью аутокринной и паракринной сети, осуществляющей клеточную интеграцию в мужской репродуктивной системе и выполняющей регуляцию фертильности [204]. Необходимо учитывать, что у подростков активно протекает пубертатный период, и цитокины могут выступать в качестве регуляторов сперматогенеза, функций клеток Сертоли и клеток Лейдига [12].

В тоже время цитокины являются и неотъемлемой частью воспалительного процесса и синтезируются различными иммунокомпетентными клетками, присутствующими в мужских половых путях [27, 164]. Как уже упоминалось, основными патологическими механизмами, воздействующими на тестикулярную ткань при варикоцеле, являются гипертермия, ишемия и гипоксия. Гипоксия может выступать в качестве промотора хронического воспаления, поскольку гипоксическое воздействие способствует индукции транскрипции генов провоспалительных цитокинов, так как при гипоксии цитокины, хемокины и факторы роста действуют как мощные регуляторы стабилизации в ответе организма на воздействие острого и хронического стресса и, следовательно, влияют на формирование механизмов адаптации к гипоксии [41]. При повышении уровня цитокинов в семенной плазме отмечено нарушение дифференцировки сперматозоидов, негативное влияние на сперматогенез и показатели подвижности сперматозоидов, зафиксировано повреждение ДНК сперматозоидов и нарастание процессов апоптоза и некроза, выявлено ингибирующее действие на акросомальную реакцию, что может приводить к развитию мужского бесплодия [27, 41, 83, 137, 227, 282, 309, 361]. Увеличение уровня провоспалительных

цитокинов может быть причиной нарушения регуляции функций клеток Сертоли, приводя к повышенной проницаемости гематотестикулярного барьера [52]. Повышение содержания IL-1 β в семенной плазме оказывает стимулирующее действие на нейтрофилы и макрофаги, способствует усилению выработки IL-6, активирующего В-лимфоциты и выработку антиспермальных антител [309]. Кроме того, на фоне венозного застоя удлиняется время контакта иммунокомпетентных клеток с антигенами сперматозоидов, что приводит к развитию аутоагрессии и аутоиммунной формы бесплодия [27].

Можно предположить, что повышение уровня провоспалительных цитокинов в семенной плазме повлечет за собой и повышение уровня противовоспалительных цитокинов для их нейтрализации, поскольку противовоспалительные цитокины представляют собой растворимые иммуносупрессивные факторы, которые защищают тестикулы от аутоагрессии [164, 227, 361]. У подростков с варикоцеле повышение уровня цитокинов может быть связано с формированием механизмов адаптации к гипоксии в условиях варикоцеле [12].

Таким образом, повышенные уровни цитокинов в семенной жидкости могут выступать маркером воспалительного процесса, являться фактором риска развития мужского бесплодия. Поскольку участие некоторых цитокинов в регуляции фертильности может зависеть от их концентрации, а цитокины действуют плеiotропно и, нередко, синергично, часто результат их взаимодействия непредсказуем, что нельзя упускать из внимания [52, 134, 164, 204, 254].

В целом, определение уровня цитокинов в семенной жидкости позволит выявить наличие и степень активности местного воспалительного процесса при варикоцеле, а оценка провоспалительного цитокинового статуса эякулята до варикоцелэктомии может стать важным параметром прогнозирования успеха операции [133].

1.2 – Эндокринные аспекты бесплодия при варикоцеле

Эндокринные нарушения являются наиболее распространенной причиной infertility, а репродуктивная функция находится под контролем гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, следовательно, важным этапом в диагностике мужского бесплодия будет оценка гормонального статуса [91].

Ведущая роль в развитии мужских половых желез (яичек и простаты) и формировании вторичных половых признаков принадлежит тестостерону [101]. Впервые активация гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси происходит на 9 неделе беременности, когда ФСГ и ЛГ становятся определяемыми в передней доле гипофиза и их уровень увеличивается в общем кровотоке, что необходимо для активации периферических гормонов, участвующих в созревании гонад [341]. В первом триместре беременности плацентарный хорионический гонадотропин из-за своего ЛГ-подобного действия приводит к увеличению продукции тестостерона у плодов мужского пола, что позволяет дифференцироваться плоду по мужскому типу [341]. К концу беременности концентрация гонадотропина существенно снижается в ответ на увеличение секреции плацентарных эстрогенов, которые, в свою очередь, подавляют активность гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, и это подавление сохраняется на протяжении приблизительно 7-10 дней из-за высокой концентрации в периферической крови новорожденного плацентарных гормонов. После снижения уровня гормонов плаценты происходит восстановление активности гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, что приводит к повышению уровня тестостерона, происходит так называемое мини-половое созревание, необходимое для последующего созревания гонад [341]. В это время происходит начальное созревание клеток Сертоли, которое сопровождается пролиферацией зародышевых клеток (сперматогоний), остающихся незрелыми, происходит начальное созревание клеток Лейдига, которые продуцируют тестостерон и оказывают трофическое действие на гениталии [341]. Уровень тестостерона сохраняется повышенным в первые 6 месяцев жизни у детей мужского пола в ответ на стимуляцию гипофиза, а затем снижается и остается низким до начала полового созревания, поскольку гипоталамо-гипофизарно-гонадная ось в этот период жизни

мальчиков остается неактивной [101]. В пубертатный период уровень тестостерона резко возрастает. Из гипоталамуса осуществляется выброс релизинг-гормона, стимулирующего выработку лютеинизирующего гормона (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). ЛГ стимулирует синтез тестостерона клетками Лейдига и способствует развитию яичек, созреванию клеток Сертоли. Это созревание характеризуется потерей их митотической способности, формированием гематотестикулярного барьера, началом мейоза зародышевых клеток с увеличением семенных канальцев и, как следствие, увеличением объема яичек [341]. ФСГ и тестостерон регулируют сперматогенез. Тестостерон играет важную роль в процессе сперматогенеза и его концентрация в яичках в сотни раз выше, чем в системной циркуляции [293]. Традиционно варикоцеле связывают с мужским бесплодием на основании его негативного влияния на функцию клеток Лейдига, что приводит к нарушению функции тестикул, снижению синтеза тестостерона и развитию тестикулярного бесплодия, связанного с повреждением паренхимы яичка [12, 16]. Яичко является источником выработки не только тестостерона, но и эстрадиола – доминирующего регулятора секреции ФСГ. Повышение уровня эстрадиола в сыворотке крови у мужчин приводит к подавлению продукции ФСГ гипофизом и, как следствие, недостаточности сперматогенеза [166].

Кроме того, нормальная мужская репродуктивная функция и фертильность зависит от тонкого баланса между рецепторами андрогенов. Нарушение регулирования андрогенных рецепторов может играть важную роль в варикоцеле индуцированной дисфункции яичек [193]. Как известно, тестостерон выполняет свои функции при взаимодействии с андроген-связывающим рецептором [57]. У лиц с варикоцеле отмечается уменьшение экспрессии андрогенных рецепторов и снижение чувствительности к тестостерону [168]. Снижение уровня тестостерона приводит к серьезным изменениям семенных канальцев (атрофии и склерозу), уменьшению количества клеток Лейдига и их гиперплазии, снижению числа рецепторов к ЛГ на их поверхности или уменьшению их чувствительности и, в итоге, к аномальным показателям эякулята [16, 58, 191, 340]. Тем не менее,

открытым остается вопрос: является ли отрицательная обратная связь клеток Лейдига для гонадотропных гормонов на ранних стадиях варикоцеле определяющей для эндокринных расстройств (эндокринная недостаточность) или варикоцеле влияет на эндокринную систему яичек [325]. Получены неоднозначные данные при исследовании гормонального профиля пациентов с варикоцеле. Большинство исследователей определили снижение уровня сывороточного тестостерона и уменьшение количества клеток Лейдига и его повышение с восстановлением функции клеток Лейдига после варикоцелеэктомии [177, 179, 191, 202, 231, 233, 264, 300, 320, 328, 359, 364]. Тем не менее, в ряде исследований, напротив, установлен повышенный уровень тестостерона у пациентов с варикоцеле, причем отмечено, что концентрация возрастает с увеличением тяжести варикоцеле [57, 298]. Это объясняется компенсаторной функцией яичек для поддержания нормального уровня тестостерона в условиях гипоксии. Те же закономерности выявлены при исследовании сывороточных уровней гонадотропин-рилизинг гормона, ФСГ, ЛГ. Так, в некоторых исследованиях установлено повышение уровня этих гормонов [222, 297, 298, 315], в ряде исследований обнаружено снижение уровня ФСГ и ЛГ [325]. Есть результаты исследований, показывающие, что нет разницы в уровнях гормонов у бесплодных пациентов с варикоцеле и без варикоцеле [88, 148, 154, 271]. Тем не менее, несмотря на противоречивые результаты, исследование гормонального профиля, включающего в себя определение уровней тестостерона, ФСГ, ЛГ, остается обязательным, т.к. позволяет оценить состояние сперматогенеза у бесплодных мужчин с варикоцеле [98, 138, 191, 270, 325, 339]. Начиная с 30-35 лет, синтез тестостерона в организме мужчины постепенно снижается на 1-2% в год [101]. Нарушение эндокринной функции половых желез у бесплодных мужчин может быть обусловлено инфекционно-воспалительными заболеваниями репродуктивного тракта, ожирением, развитием метаболического синдрома.

1.3 – Особенности метаболического статуса у подростков с варикоцеле

В последнее время, в связи с малоподвижным образом жизни, изменениями в привычках питания, отмечается неуклонный рост и распространение в педиатрической практике таких заболеваний, как метаболический синдром и ожирение, которые относятся к репродуктивно значимым эндокринопатиям [3, 77, 94, 126, 150]. Метаболический синдром – это сочетание ожирения, инсулинорезистентности или гипергликемии, атерогенной дислипидемии (гипертриглицеридемия, гиперхолестеринемия, увеличение уровня липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), снижение уровня липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), артериальной гипертензии, нарушение системы гемостаза, эндотелиальной дисфункции и хронического субклинического воспаления, вызывает много системных осложнений [54, 331]. Причем, для диагностики метаболического синдрома необязательно наличие одновременно всех перечисленных синдромов; маркерами могут выступать, например, гипергликемия и дислипидемия при нормальной массе тела [51]. Многими исследователями выявлены корреляции между ожирением, резистентностью к инсулину и нарушением функции яичек [285]. При наличии варикоцеле метаболический синдром может создать или усугубить андрологическую проблему мужского бесплодия [224]. Ожирение является доказанным фактором, негативно влияющим на мужскую репродуктивную функцию, посредством формирования системного окислительного стресса, приводящего к накоплению свободных радикалов в эякуляте, приводящего к фрагментации ДНК сперматозоидов [51, 200].

Одна из гипотез – это наличие провоспалительного состояния, как при варикоцеле, так и при метаболическом синдроме, вследствие дислипидемии. Известно, что глюкоза является основным источником энергии для большинства химических реакций [325]. Любое нарушение углеводного метаболизма или транспортировки глюкозы в герминативный эпителий может повлиять на митотическую и биохимическую активность, что может привести к нарушению сперматогенеза в канальцах. Было отмечено, что варикоцеле вызывает дегенерацию герминативного эпителия, а при гистологическом исследовании

выявлено накопление липидов в цитоплазме этих клеток. Наличие перевозчиков глюкозы – это основной способ передачи глюкозы в клетку. Предполагается, что при варикоцеле метаболизм глюкозы в герминативном эпителии уменьшается и эпителиальные клетки переключаются с глюкозы как источника энергии на липиды. Из-за недостатка энергии происходит накопление цитоплазматического уровня липидов, а клетки становятся неспособны синтезировать необходимые белки и это приводит к апоптозу и нарушению сперматогенеза [325]. Итогом становится перепроизводство активных форм кислорода, фрагментация ДНК, нарушение морфологии и подвижности сперматозоидов, снижение количества сперматозоидов [195, 293, 331]. Таким образом, метаболический синдром усугубляет имеющийся при варикоцеле энергодефицит в клетках герминативного эпителия, отягощая течение варикоцеле, но, по сути, не является результатом варикоцеле.

Ожирение связано со значительными изменениями в гормональной сфере, которые могут повлиять на репродуктивную систему. Установлено, что наличие большого процента висцерального жира, его выраженное преобладание над мышечной массой приводит к развитию андрогенного дефицита и гипогонадизма путем избыточной ароматизации тестостерона в эстрадиол жировой тканью [3, 51, 126, 150, 277].

Несмотря на это, при варикоцеле, напротив, признается защитная роль нормальной или избыточной массы тела. Это связано с наличием прослойки жировой ткани между верхней брыжеечной артерией и аортой, которая у тучных людей может играть роль барьера и препятствовать компрессии левой почечной вены, тем самым ограничивая прогрессирование варикоцеле [57, 225, 355]. Целым рядом исследователей были получены данные о том, что распространенность варикоцеле зависит от высокого роста, низкого веса и низкого ИМТ [174, 190, 240]. Таким образом, указанные показатели коррелируют с распространенностью варикоцеле и степенью тяжести и предлагаются в качестве прогностических показателей для возникновения варикоцеле и рецидива после операции [190, 240].

По данным некоторых исследователей, оценка ИМТ как предиктора варикоцеле не достигла статистических значений [98].

При варикоцеле отмечается нарушение оттока крови от яичка по измененным венам семенного канатика, что приводит к венозной гипертензии, повышению температуры яичка и повреждению его паренхимы, инициации окислительного стресса, повреждению клеток Лейдига и, как следствие, снижению синтеза тестостерона [34, 101, 165, 335]. Учитывая синергичное воздействие патогенетических механизмов при варикоцеле и метаболических нарушениях на репродуктивную систему, актуальным является раннее выявление признаков метаболического синдрома у пациентов с варикозным расширением вен семенного канатика, своевременная их коррекция с целью сохранения репродуктивного потенциала подростков.

1.4 – Роль генетических факторов в формировании бесплодия при варикоцеле

Роль генетических факторов в патогенезе мужского бесплодия, по данным разных авторов, достигает 30 %, и они могут обуславливать разные по причинам возникновения и степени тяжести формы инфертильности – от незначительного изменения сперматогенеза до абсолютной дисфункции гонад [59, 67, 81, 91]. Также генетические факторы могут быть лишь частью сложного комплексного состояния, каким является мужское бесплодие, и существенно увеличивать общий риск нарушения репродуктивной функции [164]. Несмотря на то, что при варикоцеле основными причинами развития бесплодия считаются гипертермия, ишемия, гипоксия тестикулярной ткани при ухудшении кровотока в расширенных и извитых венах, дренирующих яичко, не исключено и участие генетических факторов в нарушении сперматогенеза, поскольку экспрессия различных генов может меняться при окислительном стрессе, связанном с различными этиологическими факторами [27, 210, 284, 321, 350].

Процесс сперматогенеза контролируется четко регулируемым каскадом активации и деактивации определенных генов, количество которых составляет

около 3000, что на современном этапе делает невозможным выполнение рутинного скрининга генетических мутаций, ответственных за бесплодие [59, 67, 91, 164]. При генетическом консультировании мужчин, страдающих бесплодием, основное внимание уделяется анализу кариотипа, делециям AZF- региона Y- хромосомы и мутациям гена CFTR [59, 67, 91, 120].

По данным разных авторов, у инфертильных мужчин разброс частоты встречаемости хромосомных изменений составляет от 1,5 до 15 %, из них около $\frac{3}{4}$ приходится на долю аномалий половых хромосом X и Y, а оставшаяся часть – на аномалии неполовых хромосом, включающих числовые (например, трисомия) и/или структурные хромосомные aberrации (инверсии или транслокации) [67, 81, 221]. Известно, что хромосомные aberrации могут быть сбалансированными и несбалансированными. К сбалансированным перестройкам относят инверсии, транслокации, и их носители, как правило, фенотипически здоровы, поскольку они не приводят ни к утрате, ни к добавлению генетического материала, а только способствуют его перемещению в пределах генома [67, 117]. Несбалансированные перестройки – делеции и дупликации – отличаются наличием замены соотношений генов и сопровождаются существенными отклонениями от нормы [67].

В подавляющем большинстве случаев хромосомные аномалии представлены синдромом Клайнфельтера – трисомия 47, XXУ с частотой встречаемости 1/600 новорожденных и дисомия Y, 1/1000 новорожденных [17, 67, 91, 120]. При классической форме синдрома Клайнфельтера изменения ядерной структуры, приводящие к бесплодию, вероятнее всего, связаны с присутствием двух аллелей многих генов, связанных с избыточной X-хромосомой, которые действуют по принципу дисомии и не подвергаются инактивации [198]. Частичная фертильность у таких мужчин сохраняется только при мозаицизме, а при полностью аномальном кариотипе отмечается олигозооспермия и азооспермия в результате фиброза семенных протоков, отмечается уменьшение размеров яичек (гипогонадизм), гинекомастия, снижение потенции, обнаруживается высокий уровень гонадотропинов и низкий уровень тестостерона [17, 198]. Потеря половых клеток начинается уже у плода, продолжается в младенчестве и усиливается в период

полового созревания и сопровождается деградацией мышечной массы и минеральной массы костей, угрозой развития метаболического синдрома и повышением риска развития сахарного диабета 2 типа. Кроме того, специфический фенотип при этой генетической аномалии – высокий рост, узкие плечи, широкие бедра, астения, редкие волосы – могут помочь в диагностике. Существенно реже встречаются множественные анеуплоидии при синдроме Клайнфельтера (48, XXYY; 48, XXXY; 49, XXXXY), характеризующиеся более тяжелыми фенотипическими проявлениями в раннем детстве при формировании наружных половых органов, умственной отсталостью, или частичные увеличения копий фрагмента X-хромосомы (47,X,iXq,Y) [17].

Патологические изменения репродуктивной системы у мужчин могут развиваться при аномалиях кариотипа, обусловленных неполовыми хромосомами, например, такими как синдром Дауна (трисомия аутосомы 21). Такие мутации могут создавать серьезную и, как правило, необратимую угрозу фертильности [198].

Другой наиболее распространенной генетической причиной мужского бесплодия, помимо изменения кариотипа, являются микроделеции Y-хромосомы, локализующиеся в локусе AZF – azoospermia factor region, содержащем гены, необходимые для регуляции сперматогенеза [67, 81]. Долгое время из-за больших различий в частоте встречаемости делеций Y-хромосомы, а также их наличия у фертильных мужчин, клиническое значение этих аномалий оставалось неясным [91]. Хромосому Y считают наиболее структурно изменчивой и подверженной дупликациям, инверсиям, делециям и микроделециям. Тьеполо и Зуфари в 1976 году впервые сообщили о связи между делециями в Y-хромосоме и нарушением сперматогенеза [191]. Локус AZF расположен в длинном плече Y-хромосомы человека (Yq11) и включает в себя 3 генетических домена: проксимальный регион «а» (AZFa), промежуточный регион «b» (AZFb) и дистальный регион «с» (AZFc), который считается одной из генетически динамических областей в геноме человека, играющей роль противодействия генетической вырождаемости, связанной с отсутствием хромосомы партнера во время мейоза [91, 120, 189, 198]. Микроделеции в локусе AZF могут приводить к изменениям морфологических и

фертильных свойств сперматозоидов разной степени выраженности – от незначительного снижения сперматогенной активности (гипосперматогенез) до полного отсутствия сперматогенеза (синдром «только клетки Сертоли»), а грубые мутации AZF могут угрожать стабильности Y-хромосомы [67,81,151]. В зависимости от локализации микроделеций варьируется и фенотип от олигозооспермии различной степени выраженности до азооспермии. Установлено, что наиболее тяжелые нарушения сперматогенеза наблюдаются при полной делеции AZFa (азооспермия, синдром «только клетки Сертоли»), в то время как наличие микроделеций AZFb связано с нарушением созревания сперматозоидов на стадии сперматоцитов/сперматид, и лишь впоследствии у таких пациентов развивается азооспермия, поскольку в семенниках не остается сперматозоидов [189, 198]. Наличие делеций AZFc обычно характеризуется остаточным сперматогенезом, изменениями семенной жидкости, они передаются потомству мужского пола и могут приводить к развитию бесплодия [189, 198]. По данным литературы, наиболее часто делеции возникают в регионе AZFc (69 %), реже - в регионе AZFb (14 %), и самыми редкими являются делеции в регионе AZFa, а оставшееся количество случаев приходится на микроделеции в нескольких доменах, таких как AZFa+b, AZFb+c или AZFa+b+c [89, 91, 161, 198]. В настоящее время все шире микроделеции AZF используются в качестве маркера мужского бесплодия. Небольшие делеции Yq могут быть не визуализированы при стандартном анализе кариотипа и, следовательно, их обнаружение методом ПЦР может объяснить причину бесплодия у мужчин с нормальным кариотипом [198].

Еще одной распространенной генетической причиной мужского бесплодия является мутация обоих аллелей гена CFTR на хромосоме 7, кодирующего белок – трансмембранный регулятор проводимости (Cistic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), который принимает участие в транспорте ионов хлора через плазматическую мембрану и формировании секрета эпителиальными клетками. Это приводит к тяжелому наследственному рецессивному заболеванию муковисцидозу, встречающемуся с частотой 1/2500 новорожденных [17, 67, 78, 81, 198]. Заболевание характеризуется избыточным образованием слизи повышенной

вязкости в органах, имеющих железы внешней секреции и, в первую очередь, проявляется заболеваниями органов дыхания и ЖКТ [161]. Развитие бесплодия при муковисцидозе связано не только с закупоркой семенных протоков и нарушением их проходимости, но с различными нарушениями репродуктивной системы: задержкой полового созревания, гипогонадизмом и гипоплазией тестикул, семенных пузырьков, нарушением функции придаточных половых желез [78, 198]. Нередко обнаруживается обструктивная азооспермия, обусловленная одно- или двусторонней аплазией семявыносящих протоков [67, 78, 81]. Спектр возможных нарушений при мутации гена CFTR отличается вариабельностью в зависимости от тяжести вовлеченных мутаций (тяжелые, легкие или атипичные наборы симптомов) и, соответственно, отмечается гетерогенность андрологических и сперматологических нарушений. На долю азооспермии приходится до 87 % случаев при муковисцидозе, а в остальных случаях наблюдаются другие варианты патоспермии или нормоспермии, поэтому, в ряде случаев, фертильность может быть даже сохранена [78, 198]. В целом, отсутствие аномалий формирования пола у пациентов с муковисцидозом свидетельствует о том, что мутации гена CFTR не оказывают влияния на дифференцировку пола и морфогенез органов репродуктивной системы [78].

Таким образом, при варикоцеле, помимо факторов, напрямую оказывающих патологическое воздействие на тестикулярную ткань, в формирование инфертильности могут вносить вклад и генетические факторы, а их анализ может оказаться крайне полезным в комплексной диагностике бесплодия.

1.5 – Исследование эякулята

Стандартный анализ параметров эякулята, выполняемый в соответствии с руководством ВОЗ, является основным, технически наиболее простым и объективным методом в рутинной оценке мужской фертильности [1, 32, 65, 66, 73, 120, 205, 232, 262, 263, 310, 342].

1.5.1 – Оценка показателей спермограммы у подростков с варикоцеле

Все рассмотренные патогенетические механизмы при варикоцеле в конечном итоге приводят к нарушению сперматогенеза и развитию бесплодия [113, 187, 238, 241, 257]. В настоящее время передовой областью исследования является поиск специфического механизма снижения качества спермы при варикоцеле [123].

Сперматогенез является важным, сложным, крайне чувствительным процессом клеточной дифференциации, в регуляции которой участвуют различные системы организма и многие факторы, и, в конечном итоге, именно он определяет мужскую фертильность [31, 203]. Нарушение терморегуляции яичек, а именно гипертермия, как полагают, играет ключевую роль в патофизиологии варикоцеле [132, 187, 236, 293]. Затруднение оттока крови по яичковой вене приводит к развитию ретроградного кровотока и регургитации теплой брюшной крови в вены мошонки и, как следствие, нарушению терморегуляторных механизмов и утрате охлаждающего эффекта для поддержания низкой внутрискротальной температуры [160, 210, 291, 366]. Сперматогенез является процессом, чувствительным к тепловому воздействию, который лучше всего протекает при температуре на $2,5^{\circ}\text{C}$ ниже, чем температура тела, т.к. сперматогонии типа В и развивающиеся сперматозоиды более чувствительны к тепловому стрессу по сравнению с клетками Лейдига и клетками Сертоли, и никогда, в отличие от последних, не подвергались воздействию высоких температур, например, внутриутробно [140, 249, 290]. Кроме того, такая температура обеспечивает оптимальный уровень метаболизма в тестикулярной ткани [176]. Тепловой стресс не только существенно ускоряет метаболизм, увеличивая потребность в кислороде и способствуя развитию гипоксии, но и инициирует выработку белков теплового шока и повышение экспрессии ряда молекул, ответственных за сворачивание белков, гибель клеток, увеличение количества свободных радикалов, митохондриальную дисфункцию, ускорение метаболизма и апоптоз зародышевых клеток [121]. Как только варикоцеле сформировалось, оно сохраняется и во взрослом состоянии, неуклонно прогрессируя и оказывая неблагоприятное воздействие на ультраструктуру яичка через различные механизмы [288, 333]. Варикоцеле приводит к гипотрофии яичка,

оказывая разрушающее действие на его структуру [307, 333]. При исследовании биоптата яичка у пациентов с варикоцеле было выявлено перитубулярное утолщение соединительной ткани, вакуолизация цитоплазмы клеток Сертоли и зародышевого эпителия, наличие апоптотических клеток среди зародышевого эпителия, деграция зародышевого эпителия, большое количество аномальных форм сперматозоидов, прекращение сперматогенеза, слипчивание сперматогенных клеток и их неплотное, неупорядоченное расположение, атрофия семенных канальцев, отек мезенхимальных клеток, расширение межклеточного матрикса [219, 237, 327, 351]. Все это приводит к снижению качества спермы, которое ухудшается по мере уменьшения объема яичек [159, 336].

Окислительный стресс, являющийся результатом гипоксии тестикулярной ткани, рассматривается как основной механизм, вызывающий повреждение сперматозоидов и приводящий к ухудшению качества спермы [187, 197, 207, 263, 352]. Развитие окислительного стресса происходит при увеличении продукции активных форм кислорода и снижении антиоксидантной функции спермы [176, 239, 293, 366]. О хроническом окислительном стрессе может свидетельствовать повышенный уровень метилмалонового диальдегида и антиоксидантных ферментов во внутренней стенке семенной вены [183]. У мужчин с варикоцеле были определены более высокие уровни активных форм кислорода и снижены уровни антиоксидантов [244, 294, 322]. Установлено, что повышение температуры мошонки в связи с нарушением кровообращения и гипоксией, приводит к накоплению токсических метаболитов, которые, как полагают, являются исходным материалом для производства активных форм кислорода [187, 224, 327]. Кроме того, другими источниками активных радикалов в сперме являются лейкоциты, незрелые сперматозоиды, остаточные цитоплазматические тельца, поврежденный зародышевый эпителий, аномальные формы сперматозоидов, которые в большом количестве обнаруживаются в эякуляте при варикоцеле [187, 231, 237].

Свободные радикалы – это нестабильные химические частицы, из-за наличия в их структуре одного или более неспаренных электронов они очень активны и стремятся достичь более устойчивого состояния путем связывания с другими

молекулами или атомами [288]. В физиологических условиях активные формы кислорода выполняют многочисленные задачи в регуляции клеточных функций, взаимодействуют с клеточными липидами, углеводами, белками и нуклеиновыми кислотами [288]. Активные радикалы играют важную роль в процессе сперматогенеза, инициируя цепь химических реакций полиненасыщенных жирных кислот в клеточных мембранах, а в зрелых сперматозоидах регулируют капацитацию и акросомальную реакцию [152, 157, 187, 288]. Яичко характеризуется высокими темпами метаболизма и репликации клеток, следовательно, эти структуры особенно восприимчивы к действию активных форм кислорода [288]. Одно из повреждающих действий свободных радикалов на сперматозоиды – это перекисное окисление липидов их мембран, поскольку они богаты полиненасыщенными жирными кислотами. Сперматозоиды чувствительны к окислительному стрессу, т.к. у них отсутствует цитоплазма, содержащая ферментные антиоксидантные системы. Впоследствии быстрая потеря внутриклеточного аденозинфосфата вследствие перекисного окисления липидов приводит к повреждению аксонемы за счет истощения АТФ и пониженного фосфорилирования аксонемных белков, снижению жизнеспособности сперматозоидов, увеличению количества морфологических дефектов, астенозооспермии [140, 288]. Кроме того, высокая концентрация полиненасыщенных жирных кислот в митохондриях способствует их перекисному окислению, приводит к морфологическим изменениям митохондрий, снижает митохондриальную активность и обуславливает нарушение подвижности сперматозоидов, ограничивает их способность к оплодотворению яйцеклетки [176]. Действие окислительного стресса приводит к образованию большого количества аномальных форм сперматозоидов, активизации апоптоза [206].

В условиях гипоксии, ишемии, гипертермии подавляется экспрессия стероидогенного регуляторного белка, что приводит к нарушению транспорта холестерина – субстрата для биосинтеза андрогенов и, соответственно, к нарушению синтеза тестостерона в клетках Лейдига [131, 205]. При дефиците

тестостерона образование сперматозоидов завершается на стадии мейоза, погибают клетки Сертоли, развивается тератозооспермия [83, 131].

Несмотря на то, что варикоцеле наиболее часто диагностируется в подростковом возрасте, последствия влияния этого состояния на репродуктивную функцию будут очевидны в более позднем периоде жизни [131]. Поэтому анализ спермы имеет первостепенное значение не только для диагностики мужского бесплодия, но и прогноза фертильного потенциала у молодых пациентов, поскольку предоставляет информацию о состоянии эпидидимиса, семенных канальцев и дополнительных половых желез, а также о дефектах сперматогенеза и изменениях параметров спермы с течением времени [131, 167, 189, 249, 347].

1.5.2 – Ультраструктурные изменения сперматозоидов при варикоцеле

В современной репродуктивной медицине все больше внимания уделяется нарушениям отцовского генома, основной причиной которого считают окислительный стресс, выступающий ведущим патофизиологическим механизмом патоспермии при варикоцеле [69]. Избыточность активных форм кислорода, свободных радикалов в эякуляте при окислительном стрессе могут провоцировать повреждение сперматозоидов на субклеточном уровне, приводя не только к фрагментации ДНК, но и повреждению акросомы, митохондрий, усилению апоптоза [73, 192, 210, 232, 249, 287].

По данным ряда исследователей, наиболее часто отмечена выраженная фрагментация ДНК у пациентов с варикоцеле [187, 244, 255, 279]. Фрагментация ДНК происходит посредством прямого повреждения активными формами кислорода пуриновых и пиримидиновых оснований и фосфодиэфирных магистралей, что приводит к дестабилизации молекул ДНК и формированию аномалий (точечные мутации, полиморфизм, делеции, транслокации и двухцепочечные разрывы) [176, 288]. Также на последнем этапе сперматогенеза ядерное ремоделирование и конденсация хроматина у сперматид связаны с перемещением ядерных гистонов и формированием протаминов, обеспечивающих конденсацию хроматина в головках сперматозоидов, стабилизацию и уплотнение

ДНК, а активные формы кислорода нарушают этот процесс, приводя к дефициту протаминов и фрагментации ДНК [104, 187, 214, 224, 311, 313, 336]. На повышенный индекс фрагментации ДНК сперматозоидов при варикоцеле может указывать низкая концентрация сперматозоидов, нарушение их подвижности и морфологии [301]. Целостность ДНК сперматозоидов – необходимое условие для точной передачи генетической информации и для надлежащего развития эмбриона [176, 279, 308]. Оплодотворение яйцеклетки сперматозоидом с поврежденной ДНК может привести к снижению продолжительности жизни потомства, развитию у него генетических или онкологических заболеваний [288]. Таким образом, окислительный стресс оказывает негативное влияние на структуру и функции сперматозоидов, вызывает изменение мембранных липидов, нарушение обмена веществ в сперматозоидах, снижение их подвижности и жизнеспособности, приводит к фрагментации ДНК и активации апоптоза, снижению количества сперматозоидов и, в итоге, к развитию бесплодия [152, 157, 239, 263, 293, 366]. Следует отметить, что нарастание проявлений окислительного стресса связывают с классом варикоцеле и его одно- или двухсторонностью [303].

Спермограмма, несомненно, является обязательным методом диагностики мужского бесплодия, прогноза фертильности и представляет собой результат исследования физических, количественных, морфологических, кинетических показателей эякулята. Электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов (ЭМИС) относится к дополнительным, вспомогательным методам диагностики, позволяющим выявить изменения на субклеточном уровне, нередко сопровождающиеся нормозооспермией, особенно в случаях варикоцеле [66, 69, 188, 281]. В целом, спермограмма и ЭМИС позволяют выполнить оценку независимых параметров сперматозоидов, и один тест не может заменить другой при выявлении дефектов клеток [273].

1.5.3 – Диагностика бактериоспермии и ее влияние на показатели спермограммы

Дополнительную роль в формировании бесплодия при варикоцеле могут играть другие факторы, напрямую не связанные с патогенезом варикоцеле, но

усугубляющие патоспермию. Таким фактором может являться бактериоспермия, причем, инфекционная этиология вызывает около 15 % случаев мужского бесплодия [242, 345]. Инфекции, передающиеся половым путем, имеют, как правило, выраженную клиническую картину, достаточно легко диагностируются и роль таких микроорганизмов в патологическом влиянии на сперматозоиды хорошо известна, поскольку более ранние исследования бактерий в эякуляте были сосредоточены на обнаружении, идентификации и определении воздействия на параметры спермы явных патогенов [156, 247, 248, 254, 299, 309, 332, 346].

Результаты последних исследований показали, что сперма не является стерильной и может содержать большое количество микроорганизмов, которые могут быть комменсалами или контаминатами [213, 254, 329, 332, 346]. Однако до сих пор не известно, связан ли микробиом спермы с мужской фертильностью или качеством спермы [292]. Поскольку многие микроорганизмы, обнаруживаемые в эякуляте, являются условно-патогенными, для доказательства их участия в патологическом процессе недостаточно только определения их присутствия в сперме [332]. Некоторыми авторами утверждается, что бессимптомная бактериоспермия может являться причиной бесплодия [134]. Предполагается, что фертильность при наличии бактерий в эякуляте может быть нарушена разными механизмами и на разных уровнях: развитие воспаления, дисфункция добавочных желез и непроходимость эпидидимиса, непосредственное действие на сперматозоиды (фрагментация ДНК, нарушение акросомной реакции, повреждение митохондрий, снижение прогрессивной подвижности), нарушение сперматогенеза путем прямой конкуренции за питательные вещества, а также производство бактериями токсических промежуточных продуктов метаболизма или эндотоксинов, изменение физико-химических параметров эякулята, иммуноопосредованное действие с появлением антиспермальных антител (АСАТ) [19, 103, 110, 116, 156, 213, 220, 226, 229, 295, 309, 312, 332, 337, 343]. С другой стороны, убедительные доказательства, указывающие на то, что бессимптомная бактериоспермия может служить этиопатогенетическим фактором, способным оказать негативное влияние на качество эякулята и стать причиной мужского

бесплодия, отсутствуют, и сложно оценить влияние бессимптомной инфекции на фертильность [7, 19, 110, 248, 309].

Тело человека является средой обитания огромного количества различных видов бактерий, вирусов, грибов, паразитов, и феномен молекулярной мимикрии, используемый микроорганизмами для подавления иммунного ответа хозяина, дает им возможность инициировать аутоиммунитет, имитируя белки хозяина, в том числе и белки сперматозоидов, следовательно, молекулярная мимикрия также может быть механизмом, вызывающим бесплодие [328]. Такое предположение возникло на наблюдении, что АСАТ обнаруживают у людей, не имеющих причин к их синтезу, и, возможно, иммунный ответ против микроорганизма продуцирует антитела к сходному эпитопу сперматозоида, тем самым приводя к образованию АСАТ и формированию иммунологической формы бесплодия [328].

Неоднократно сообщалось, что АСАТ присутствуют и у фертильных мужчин по неизвестным причинам, и эти причины не изучены [286]. Перекрестно реагирующие антигены были обнаружены у *Escherichia coli*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* и многих других бактерий и вирусов [100, 114, 286, 328]. *Helicobacter pylori* также рассматривается в качестве возможного инициатора аутоиммунитета к сперматозоидам, поскольку сперматозоиды – единственные жгутиковые клетки человека, нельзя игнорировать возможность их гомологии с бактериальными жгутиками [328].

Таким образом, инициировать аутоиммунные реакции против сперматозоидов могут не только возбудители инфекций, передаваемых половым путем, патогенные микроорганизмы, но и представители условно-патогенной флоры.

Учитывая обследуемый контингент, предполагается, что подростки еще не получают микроорганизмы посредством половых контактов, о чем свидетельствует отсутствие клинических проявлений заболеваний, передающихся половым путем, предоставляется возможность определения влияния на фертильные свойства эякулята бессимптомной бактериоспермии, обусловленной как правило, условно-патогенной микрофлорой [121, 156, 254].

Поскольку клиническое значение бессимптомной бактериоспермии остается неясным, а выявление бактерий в сперме без оценки параметров эякулята не дает представления о степени повреждения сперматозоидов, необходима комплексная оценка не только наличия бактерий в эякуляте, но и изменений показателей спермограммы.

1.6 – Гистологические и ультраструктурные изменения вен семенного канатика при варикоцеле

При варикоцеле происходит изменение морфологии вен лозовидного сплетения семенного канатика, обуславливающее клиническую симптоматику и степень ее выраженности. В более чем 90 % случаев варикоцеле является левосторонним, что напрямую связано с анатомической особенностью строения венозной системы, поскольку правая яичковая вена непосредственно впадает в нижнюю полую вену, в то время как левая яичковая вена под прямым углом впадает в левую почечную вену, где она подвергается компрессии между верхней мезентеральной артерией и аортой (синдром аорто-мезентериального сдавления, или nutcracker syndrome), приводя к повышению гидростатического давления в левой яичковой вене [11, 181, 182, 256, 259]. Кроме того, венозная система левого яичка характеризуется большей протяженностью по сравнению с правым [72]. Это, так называемое, идиопатическое левостороннее варикоцеле, которое проявляется в период полового созревания, характеризующегося бурным ростом органов репродуктивной системы, и оно, как правило, составляет большую часть наблюдений [12]. Исследователями предлагаются различные механизмы, объясняющие изменение структуры вен. Ряд специалистов предполагает возможным развитие варикоцеле вследствие системных изменений в строении соединительной ткани, таких как неполноценность мезенхимальной ткани и локальная дискомплектация коллагена в стенке сосуда, дегенеративные изменения в гладкомышечных клетках сосуда, а также обилия коллагеновых волокон в медиальной стенке вен [11]. Кроме того, не исключается врожденная неполноценность яичковых вен ввиду их сложного образования в эмбриогенезе,

что обуславливает клапанную венозную недостаточность [72]. Другие авторы рассматривают изменение стенки вены как компенсаторную реакцию, которая направлена на усиление сопротивления локально повышенному гемодинамическому давлению при сдавлении сосудов снаружи в результате какого-либо патологического процесса. Такие варианты рассматриваются как вторичное варикоцеле, которое несмотря на то, что встречается крайне редко, но ввиду тяжести патологии, его вызывающей, не позволяет игнорировать такую возможность и требует выполнения тщательной дифференциальной диагностики, особенно в пубертатный период [12]. Срыв компенсаторных процессов приводит либо к образованию склерозированных, утолщенных стенок вен, либо к их истончению и неспособности нести функциональную нагрузку [47, 215]. Ряд авторов придерживается мнения, что развитие варикоцеле обусловлено вторичными склеротическими изменениями в стенке сосуда, которые наслаиваются на комплекс нарушенного ангиогенеза по типу венозной мальформации [49].

На современном этапе в патогенезе многих хронических болезней, таких как атеросклероз, артериальная гипертензия, хроническая сердечная недостаточность, сахарный диабет, хроническая обструктивная болезнь легких, хронические болезни почек и кишечника, варикозная болезнь, рассматривается эндотелиальная дисфункция [33, 46]. Проблема эндотелиальной дисфункции в настоящее время привлекает многих исследователей, поскольку рассматривается как один из факторов морфологических изменений сосудистой стенки [45]. Сосудистый эндотелий представляет собой однослойный пласт плоских клеток, выстилающих внутреннюю поверхность сосудов и, по современным представлениям, является не просто полупроницаемой мембраной, а активным эндокринным органом, самым большим в теле человека [43, 46]. Важнейшая функция эндотелия – поддержание гемоваскулярного гомеостаза, регуляция гемостаза, модуляция воспаления, регуляция сосудистого тонуса и проницаемости сосудов, участие в ангиогенезе, поддержание баланса жидкости, обмена компонентов межклеточного матрикса [68]. Как известно, основная задача эндотелия заключается в строго

сбалансированном выделении биологически активных веществ, определяющих работу системы кровообращения [46]. Увеличение гемодинамической нагрузки, наблюдаемое при варикоцеле, может являться одним из факторов стимулирования секреторной активности эндотелия. Учитывая уникальность венозной системы кровоснабжения яичек среди эндокринных желез, прежде всего в силу своей протяженности, можно предположить, что стимуляция большой площади эндотелия приведет к повышению секреции биологически активных веществ и формированию эндотелиальной дисфункции [71, 62]. Недостаточно изученным остается вопрос о корреляции морфологических изменений вен лозовидного сплетения и клинической степени варикоцеле, степени изменения структуры эндотелиоцитов вены при варикоцеле и вклада эндотелиальной дисфункции в ремоделирование сосуда.

Период жизни от рождения до окончания пубертатного периода довольно продолжителен, состоит из большого количества сложно регулируемых этапов и на каждом из них могут произойти критические для репродуктивной функции изменения.

ГЛАВА 2 - МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базе лабораторий иммунопатофизиологии и иммунологии воспаления Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН, г. Екатеринбург). Отбор пациентов для исследования, забор биоптатов вен осуществлялся в ГАУЗ СО «ДГКБ № 9», под руководством детского уролога-андролога, детского хирурга, доцента кафедры детской хирургии УГМУ к.м.н. Комаровой С.Ю. Гистологическое и ультраструктурное исследование вен семенного канатика выполнено совместно с врачом-патологоанатомом лаборатории электронной микроскопии, к.м.н. Клейном А.В. (ГАУЗ СО «КДЦ», центральная научно-исследовательская лаборатория УГМУ). Лабораторные исследования выполнены в ГАУЗ СО «КДЦ», 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. Беяевой С.В., заведующей клинко-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. В качестве материала для выполнения поставленных задач послужили результаты обследования пациентов, страдающих варикоцеле и находившихся на лечении в ГАУЗ СО ДГКБ № 9. На первом этапе выполнен ретроспективный анализ медицинской документации (258 историй болезни) подростков, которые получали лечение по поводу варикоцеле (варикоцелеэктомия).

Критерии включения для подростков с варикоцеле: варикоцеле II и III степени.

Критерии включения для подростков без варикоцеле: 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.

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

На основании полученных результатов сформирована основная группа из 100 подростков с левосторонним варикоцеле в возрасте 14 лет, всем подросткам выполнена лапароскопическая варикоцелэктомия. В соответствии с поставленными задачами основная группа подростков была подразделена на 4 подгруппы по следующим двум критериям:

1. В зависимости от степени прогрессии 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 варикоцелэктомия, и далее они обследовались согласно методологии исследования.

Группу сравнения составили подростки в возрасте 14 лет без варикоцеле в количестве 30 человек. Отсутствие варикоцеле подтверждено осмотром уролога и результатами УЗИ мошонки.

На следующем этапе работы выполнены морфологические (гистологическое, электронно-микроскопическое) исследования биоптатов вен у подростков, взятых во время оперативной коррекции варикоцеле (подростки из 3 подгруппы).

Антропометрические и лабораторные исследования (иммунологические, биохимические, гормональные) в сыворотке крови выполнены ежегодно однократно за период от 14 до 17 лет в каждой группе подростков (у подростков из 3 подгруппы первые лабораторные и антропометрические исследования в возрасте 14 лет выполнены до варикоцелэктомии). За этот период однократно проведена диагностика основных генетических факторов нарушения репродуктивной функции у мужчин. По достижении 17 лет подростки сдавали на исследование эякулят для выполнения бактериологического исследования, спермограммы, ЭМИС, определения уровня АСАТ, цитокинов (однократно). Эякулят для исследования был получен методом мастурбации после 3-5 дневного воздержания при соблюдении всех условий сбора спермы у подростков [59]. Перед сбором эякулята обследуемым были даны инструкции о необходимости выполнения процедур для предотвращения загрязнения образцов. Пациенты должны были помыть руки и пенис с мылом, сперма экулировалась в стерильный контейнер [72, 150, 247].

Выбранные методы обследования доступны, достоверно отражают уровень определяемого показателя.

При работе с историями болезни внимание уделяли наличию соматической и инфекционной патологии, аллергоанамнезу, собрана информация о курении, употреблении подростками алкоголя, наркотиков.

2.1 – Иммунологические методы исследования

2.1.1 – Определение уровня антиспермальных антител (АСАТ)

Определение АСАТ в сыворотке крови (IgG) проводили методом количественного ИФА на сертифицированных диагностических наборах фирмы «Bioserv» (Германия), имеющих регистрационное удостоверение Министерства здравоохранения Российской Федерации и разрешенных для использования в медицинских целях. В исследовании определяли концентрацию антител в МЕ/мл, положительным (диагностически значимым) 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). Инструкция к набору не содержит информации на возможность неспецифического связывания реагентов с какими-либо компонентами, кроме антител к антигенам сперматозоидов.

Антитела в семенной жидкости (IgG, IgA суммарные) определяли 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 специфических антител в образце семенной плазмы, направленных против спермальных антигенов, латексные частицы, сорбированные антигеном, агглютинировали в течение 1-2 минут. Положительным считался тест на присутствие АСАТ, если агглютинация присутствовала при разведении образца начиная с 1:100. Проводилась визуальная оценка теста.

2.1.2 – Определение уровня цитокинов

Определение уровня секретированных цитокинов проводили с помощью наборов «Вектор – Бест» (Россия), предназначенных для количественного определения уровня IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α , IL-4, IL-10, VEGF методом ИФА на анализаторе Model 680 (BioRad, США).

2.2 – Антропометрические исследования

Выполняли измерение соматометрических показателей (рост и масса тела) с последующей оценкой соответствия их возрастным нормам с помощью центильных таблиц. Измерение выполняли унифицированными методами с помощью стандартизованных ростомера и рычажных медицинских весов (точность измерения до 100 гр). Расчет индекса массы тела (ИМТ) проводили по формуле: вес (кг)/рост (м)². Данные для оценки показателя ИМТ приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Оценка индекса массы тела (ИМТ)

Класс массы тела	ИМТ (кг/м ²)	Риск сопутствующих заболеваний
Дефицит массы тела	Менее 18,5	Низкий
Норма	18,5 – 24,9	Средний для популяции
Избыток массы тела	25,0 – 29,9	Повышенный
Резко выраженное ожирение	30,0 – 34,9	Высокий
	35,0 – 39,9	Очень высокий
Очень резко выраженное ожирение	Более 40	Крайне высокий

2.3 – 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).

2.4 – Биохимические исследования

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

2.5 – Цитогенетическое обследование

Генетическое исследование включало определение кариотипа, наличие микроделеций в локусе AZF, мутации гена CFTR.

Для получения и анализа хромосомного материала использовалась цельная периферическая кровь, взятая путем венопункции в стерильную пробирку с гепарином (из расчета 50-100 единиц гепарина на 1 мл крови). Метод цитогенетического исследования включал в себя следующие этапы [38]:

1. Постановка культуры лимфоцитов.
2. Обработка культуры лимфоцитов (колхинизация, гипотонизация, фиксация и проготовление хромосомных препаратов).
3. Окраска препаратов.
4. Анализ кариотипа.

Постановка культуры лимфоцитов осуществлялась в специальном боксовом помещении. В стерильный культуральный флакон вносили 0,5 мл цельной гепаринизированной крови, 0,05-0,1 мл ФГА, добавляли во флакон 4,5 мл среды Игла, 0,3 мл раствора глутамина, 1 мл сыворотки крупного рогатого скота или эмбриональной телячьей. Флакон с культуральной смесью плотно закрывали стерильной резиновой пробкой и помещали в термостат при 37⁰С на 72 часа.

Обработка культуры лимфоцитов.

Колхинизация клеточной культуры проводилась для блокирования веретена деления клетки на стадии метафазы. Колхицин вносился в культуру лимфоцитов за 1,5-2 часа до начала фиксации. Колхицин вносился с таким расчетом, чтобы конечная концентрация вещества была в пределах 0,25-1,0 мкг/мл культуральной смеси. После введения колхицина флаконы с культурами продолжали инкубировать в термостате.

По окончании инкубации клеток с колхицином культуральная смесь из каждого флакона сливалась в чистые центрифужные пробирки и центрифугировалась 5 минут при 1000 об/мин. Затем надосадочную жидкость сливали.

Для выполнения гипотонизации к осадку клеток добавляли 0,55 % раствор хлорида калия, предварительно нагретый до 37⁰С. Гипотонизация проводилась в термостате при 37⁰С в течение 15 - 25 минут. Количество гипотонического раствора на 1 центрифужную пробирку – 7-9 мл. После гипотонизации пробирки центрифугировали, надосадочную жидкость сливали.

Фиксация. В качестве фиксирующей смеси использовали метанол (или этанол) и ледяную уксусную кислоту в соотношении 3:1. Смесь приготавливали перед фиксацией и охлаждали в камере морозильника. К осадку клеток после гипотонизации фиксатор добавляли по стенке пробирки, при этом, осадок клеток предварительно тщательно встряхивался. Клетки ресуспендировались пипеткой в фиксирующей смеси, объем которой в пробирке составлял 5-7 мл. Клетки проходили 3-4 смены фиксатора, каждый раз сменяя его центрифугированием. Общая продолжительность фиксации от 40 минут до 1,5 часов. Показателем завершенности фиксации является бесцветность, прозрачность последней порции фиксатора, после того как в нем ресуспендирована клеточная взвесь.

Приготовление хромосомных препаратов. Процедуры этого этапа необходимы для получения хорошо «распластанных» метафазных пластинок с сохранением целостности хромосомного набора в каждой из них.

В холодильник заблаговременно помещали хорошо вымытые и обезжиренные в растворе бихромата калия на концентрированной серной кислоте предметные стекла в дистиллированной воде. Клеточную взвесь из последней фиксации тщательно разбивали. Затем на охлажденное, влажное стекло с высоты 0,5 – 1 м наносили пипеткой 4-5 капель клеточной взвеси, одну возле другой. После высыхания стекла маркировали и до окраски хранили при комнатной температуре.

Окраска хромосомных препаратов [38, 85]. Все полученные хромосомные препараты подвергались дифференциальной G-окраске. При необходимости проводилась дополнительная C-окраска.

G-метод окраски. После окраски каждая пара хромосом приобретала поперечную исчерченность по длине благодаря чередованию различно

окрашенных гетерохроматиновых (темных) и эухроматиновых (светлых) сегментов.

Для окраски использовались следующие реактивы:

1. Раствор трипсина 0,25 %.
2. Фосфатный буфер, pH=6,8 (NaCl – 16,0 г, KCl – 0,4 г, Na₂HPO₄ – 2,3г, KH₂PO₄ – 0,4 г, H₂O – до 2 000 мл).
3. Спирты 700, 960, 1000.
4. Рабочий раствор красителя Гимзы (1 мл краски + 49 мл фосфатного буфера).

Предметные стекла помещали в раствор трипсина на 15-30 секунд при комнатной температуре, после чего последовательно ополаскивали в спиртах с разным разведением (700, 960, 1000), выдерживая в каждом не менее 30 секунд и высушивали. Затем стекла окрашивали красителем Гимзы, наливая рабочий раствор краски на стекло. Продолжительность окраски от 8 до 15 минут. Затем краску смывали водой. Стекла высушивали и анализировали.

C-метод окраски. Применялся для выявления районов конститутивного гетерохроматина, локализованного в прицентромерных участках хромосом 1, 9 и 16 и в длинном плече Y-хромосомы, а также в коротких плечах акроцентрических хромосом. Этот метод, выявляя структурный гетерохроматин во всех хромосомах, позволял лучше, чем какой-либо другой метод оценить хромосомный полиморфизм, а также использовался для уточнения характера хромосомных перестроек, особенно помогая в идентификации перичентрических инверсий.

Для процедуры окраски необходимы следующие реактивы:

1. 0,2N раствор HCl.
2. 0,07N раствор NaOH, приготовленный на 0,12M растворе NaCl, pH=12,0.
3. Раствор 2xSSC, pH=7,0 (NaCl – 17,53 г, цитрат триуглекислый водный 8,82 г, H₂O – до 1 000 мл).
4. Фосфатный буфер, pH=6,8.
5. Рабочий раствор краски Гимза.
6. Спирты 700, 960, 1000.

Предметные стекла помещали в 0,2N раствор HCl на 10-12 минут, после чего их трехкратно отмывали в дистиллированной воде по 5 минут и далее выдерживали в 0,07N растворе NaOH в течение 30 секунд при комнатной температуре. После щелочной обработки препараты споласкивали трижды в течение 5-10 минут в растворе 2xSSC. Отмытые препараты погружали в раствор 2xSSC и инкубировали 18-24 часа при 65⁰C. По окончании инкубации препараты промывали в трех сменах спиртов с разным разведением (700, 960, 1000), высушивали и приступали к окрашиванию рабочим раствором красителя Гимзы, приготовленном на фосфатном буфере. Продолжительность окраски 10-15 минут, после чего стекла споласкивали дистиллированной водой, высушивали и приступали к микроскопии.

Анализ хромосомных препаратов проводился на микроскопе «OLYMPUS», под масляной иммерсией 7 x 90.

Анализ хромосомного препарата предполагал оценку общего количества хромосом в метафазной пластинке, индивидуальную идентификацию хромосом по морфологическим характеристикам и дифференциальной окраске. Сравнение хромосом на полученных препаратах проводилось с вариантами нормального кариотипа, приведенными в атласе «Хромосомы человека» [85].

При проведении цитогенетического исследования необходимо проанализировать не менее 10–15 клеток (метафаз). Всегда следует иметь в виду явление мозаицизма, встречающегося при численных аномалиях, главным образом, при аномалиях в системе половых хромосом. Численные и структурные перестройки, повторяющиеся более 2 раз среди 29 клеток, заставляют заподозрить мозаицизм. Была использована следующая схема проведения анализа дополнительного количества клеток (*таблица 2*) [38].

Обозначение кариотипа проводилось в соответствии с Парижской номенклатурой хромосом, 1985г. [38].

Таблица 2 – Критерии оценки хромосомных препаратов

Число анализируемых клеток	Число клеток с аномалией	Принимаемое заключение
29	0	Мозаицизм отвергается
	3	Мозаицизм
	1,2	Число клеток увеличить до 44
44	1	Мозаицизм отвергается
	4-5	Мозаицизм
	2,3	Число клеток увеличить до 57
57	2	Мозаицизм отвергается
	5-6	Мозаицизм
	3,4	Число клеток увеличить до 70

Исследование делеций локусов AZF и гена CFTR выполнялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием прибора «ДТ-Прайм» (Россия). Выделение ДНК из цельной периферической крови проводилось с применением диагностических наборов «Рапид-генетика» производства ООО «ДНК-Технология» (Россия) в соответствии с инструкцией. Исследование локуса AZF проводилось 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 проводилось на наборе «Муковисцидоз скрин» («ДНК-Технология»), включающем в себя 8 точек:

- 1) CFTR_F 508del
- 2) CFTR_E92k
- 3) CFTR_w1282x
- 4) CFTR_N1303k
- 5) CFTR_214delT
- 6) CFTR_1677delTA
- 7) CFTR_3849kbC>T
- 8) CFTR_dele2,3(21kb)

2.6 - Спермограмма

Спермограмма выполнена по общепринятым методикам и ее параметры оценены в соответствии с критериями руководства ВОЗ по проведению исследования и оценке эякулята человека, пятое издание, 2010 года [370].

При оценке спермограммы исследовались следующие группы показателей: количественные (объем эякулята, концентрация сперматозоидов, общее количество сперматозоидов), качественные (цвет, кислотность - pH, вязкость), микроскопические (оценка подвижности и жизнеспособности сперматозоидов, наличие агглютинации и агрегации, оценка других клеточных элементов, изучение морфологии сперматозоидов, клеток сперматогенеза).

Объем эякулята оценивался сразу после его разжижения с помощью мерной лабораторной посуды.

Общая концентрация сперматозоидов, общее количество сперматозоидов, оценка прогрессивной подвижности А, В и А+В выполнены на спермоанализаторе АФС-500-2 с программным обеспечением операционной системой Windows XP Service Pack 2 (НПФ «БИОЛА», Россия).

При оценке подвижности сперматозоидов учитывалась не только скорость, но и направление движения сперматозоидов. Подвижность каждого сперматозоида классифицировалась по категориям А, В, С и D и при этом использовались следующие критерии:

- категория «А» – быстрое поступательное движение;
- категория «В» – медленное поступательное движение;
- категория «С» – все виды непоступательного движения;
- категория «D» – неподвижные сперматозоиды.

Астенозооспермия – снижение менее 30% прогрессивной подвижности (А+В), или менее 40% общей подвижности (А+В+С).

Качественные показатели эякулята. Оценка цвета проводилась сразу после разжижения. Нормальный эякулят мутный, молочно-белого или серовато-желтого цвета, может содержать желеобразные гранулы.

Определение рН эякулята также проводилось после его разжижения. Для определения рН использовали индикаторную бумагу с диапазоном определения от 1 до 10 ед. Полоску индикаторной бумаги обмакивали в сперму и сравнивали с эталонной шкалой. Реакция эякулята в норме слабощелочная или щелочная, рН колеблется в диапазоне 7,2 – 8,0.

Для определения вязкости разжиженного эякулята в него опускали стеклянную палочку, а затем поднимали и измеряли длину образующейся нити. В норме ее длина не должна превышать 2 см. Вискозипатия эякулята – повышение его вязкости.

Микроскопическое исследование эякулята

Микроскопическое исследование эякулята включало в себя изучение нативного препарата для оценки жизнеспособности сперматозоидов, выявление агрегации и агглютинации сперматозоидов, обнаружения других клеточных элементов (макрофагов, эритроцитов, амилоидных, липоидных телец), а также исследование окрашенных препаратов с целью изучения морфологии сперматозоидов и клеток сперматогенеза. Все микроскопические исследования эякулята выполнялись с помощью микроскопа «OLYMPUS».

Микроскопическое исследование нативного препарата эякулята

На предметное стекло наносили каплю фиксированного объема 10 мкл тщательно размешанного эякулята и накрывали покровным стеклом. Под тяжестью покровного стекла эякулят равномерно в виде монослоя распределялся по поверхности предметного стекла, обеспечивая стандартную толщину и оптимальный обзор препарата.

Агглютинация сперматозоидов – это склеивание подвижных сперматозоидов между собой. Отмечался тип агглютинации (головками, жгутиками или смешанный вариант) и оценивалась степень агглютинации полуколичественно:

«-» – отсутствие агглютинации;

«+» – слабо выраженная (до 10 скоплений по 4-6 сперматозоидов в каждом);

«++» – значительная (в препарате более 20 скоплений);

«+++» – резко выраженная (в препарате более 20 скоплений из более 20 сперматозоидов);

«++++» – тяжелая степень агглютинации (все подвижные сперматозоиды находятся в состоянии агглютинации).

Агрегация (псевдоагглютинация) – хаотическое скопление неподвижных сперматозоидов, нагромождение их на комочки или тяжи слизи, клеточные элементы.

Слизь в нормальном эякуляте отсутствует. При воспалительных процессах она обнаруживается в нативном препарате в виде комочков.

Лецитиновые зерна мелкие блестящие зернышки, содержатся в нормальной сперме. При воспалительных процессах их количество резко уменьшается или совсем исчезает.

Амилоидные тельца – образования округлой формы, разных размеров с характерной слоистостью, напоминающей спил дерева, являются элементами застоя секрета предстательной железы.

Жизнеспособность сперматозоидов определяли в тех случаях, когда количество неподвижных сперматозоидов превышало 50 %. Под жизнеспособностью сперматозоидов подразумевалась доля (%) «живых» сперматозоидов, которые определялись по исключению красителя. На предметном стекле смешивали каплю хорошо перемешанного эякулята с такой же по размеру каплей 3 % раствора эозина на дистиллированной воде, препарат накрывали покровным стеклом и исследовали через 30 минут. Живые сперматозоиды оставались бесцветными, мертвые были окрашены в цвет красителя. Некрозооспермия – присутствие в эякуляте более 50 % мертвых сперматозоидов.

Подсчет лейкоцитов и «круглых клеток» проводили в камере Горяева, в 100 больших квадратах предварительно применив разведение эякулята в 10 раз физиологическим раствором.

Расчет осуществляли по формуле:

$$L (\text{круглые клетки}) = \frac{a \times 250 \times 10 \times 1000}{100}, \quad (1)$$

где, L (круглые клетки) – количество лейкоцитов в 1 мл эякулята, а – количество лейкоцитов (круглых клеток) в 100 больших квадратах, 250 – 1/250-объем большого квадрата, 10 – степень разведения спермы, 1000 – 1000 мкл в 1 мл эякулята, 100 – количество больших квадратов.

В норме содержание лейкоцитов в эякуляте содержится менее 1 млн/мл, а круглых клеток – менее 5 млн/мл.

Микроскопическое исследование окрашенного препарата эякулята

Для оценки морфологии сперматозоидов и клеток сперматогенеза использованы мазки эякулята, которые после высыхания были окрашены по Романовскому и исследованы под микроскопом под масляной иммерсией. В окрашенных препаратах проводили подсчет 100 сперматозоидов. У сперматозоидов прокрашиваются головка, хроматин, акросомальная зона, шейка, жгутик. При анализе морфологии головки оценивали размер, форму, симметричность, размер акросомы, вакуолизацию хроматина, характер соединения шейки и головки, размер и расположение жгутика.

Нормативные показатели эякулята человека и номенклатура патологических состояний сперматогенеза (согласно критериям руководства ВОЗ, пятое издание, 2010 [370]), представлены в *таблицах 3, 4*.

Таблица 3 – Нормативные показатели эякулята человека по проведению исследования и оценке эякулята человека

Показатель	Нормативные значения показателей эякулята ВОЗ (2010)
Срок воздержания	2-7 дней
Объем эякулята, мл	1,5 мл и более
pH	7,2
Срок разжижения	до 60 мин
Общее количество сперматозоидов в эякуляте, млн	39 млн и более
Концентрация сперматозоидов в 1 мл, млн	15 млн и более
Живые сперматозоиды, %	58% и более
Подвижность сперматозоидов	
Общая подвижность (A+B+C), %	40% и более
Прогрессивно подвижные (A+B), %	32% и более
Непрогрессивно подвижные (C), %	-
Неподвижные (D)	-
Агрегация	Отсутствует
Агглютинация	Отсутствует
Морфология сперматозоидов	
Морфологически нормальные, %	4% и более
Патологические формы	-
Количество лейкоцитов в 1 мл, млн	Менее 1 млн

Таблица 4 – Номенклатура патологических состояний сперматогенеза человека по проведению исследования и оценке эякулята человека

Аспермия	Отсутствие эякулята (или ретроградная эякуляция)
Астенозооспермия	Доля (в процентах, %>%>) прогрессивно-подвижных сперматозоидов (PR) ниже нормативных значений
Астенотератозооспермия	Доля (%%) как прогрессивно-подвижных (PR), так и морфологически нормальных сперматозоидов ниже нормативных значений
Азооспермия	Сперматозоиды в эякуляте отсутствуют
Гемоспермия (гематоспермия)	Присутствие эритроцитов в эякуляте
Криптозооспермия	Сперматозоиды отсутствуют в нативном препарате, но присутствуют в осадке эякулята
Лейкоспермия (лейкоцитоспермия, пиоспермия)	Присутствие лейкоцитов в эякуляте выше нормативных значений
Некрозооспермия	Низкий процент живых и высокий процент неподвижных сперматозоидов в эякуляте
Нормозооспермия	Общее число (или концентрация*) сперматозоидов и процент прогрессивно-подвижных (PR) и морфологически нормальных сперматозоидов равно или выше нормативных значений
Олигоастенозооспермия	Общее число (или концентрация*) и процент прогрессивно-подвижных (PR) сперматозоидов ниже нормативных значений
Олигоастенотератозооспермия	Общее число (или концентрация*) сперматозоидов и процент как прогрессивно-подвижных (PR), так и морфологически нормальных сперматозоидов ниже нормативных значений
Олиготератозооспермия	Общее число (или концентрация*) сперматозоидов и процент морфологически нормальных сперматозоидов ниже нормативных значений
Олигозооспермия	Общее число (или концентрация*) сперматозоидов ниже нормативных значений
Тератозооспермия	Процент морфологически нормальных сперматозоидов ниже нормативных значений

Примечание: *Предпочтение всегда следует отдавать общему количеству сперматозоидов в эякуляте, а не концентрации в 1 мл.

2.7 – Электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов (ЭМИС)

Для ЭМИС эякулят фиксировали в 2,5 % растворе глутаральдегида. Затем образец центрифугировали и полученный осадок помещали для последующей дофиксации в 1 % раствор 4-х окиси осмия. Затем образец проводили в спиртах в возрастающей концентрации и полимеризовали 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.

Строение сперматозоидов оценивали на продольных и поперечных срезах по следующим параметрам: форма ядра и состояние хроматина (степень компактизации, наличие вакуолей и очагов деструкции), наличие акросомы, ее локализация, размер и состояние, структура центриолей и аксонемы (количественные и качественные характеристики дуплетов, денеиновых ручек), структура и локализация митохондрий, плотных фибрилл, волокон фиброзного слоя, наличие цитоплазматической капли и ее локализация.

Поскольку сперматогенез осуществляется непрерывно, то на момент исследования в эякуляте присутствуют сперматозоиды, находящиеся на разных этапах жизненного цикла, в том числе и погибающие. Для оценки ультраструктуры сперматозоидов отбирались клетки с сохранными, четко визуализирующимися органеллами.

В общей сложности было просмотрено свыше 2000 срезов от 130 человек и произведено 1560 микрофотографий при увеличениях от 4400 до 71000.

2.8 – Бактериологическое исследование эякулята

В настоящее время принятый стандарт оценки микробиома мужских половых путей использует метод культивирования [229, 309, 332, 369].

После предварительного мочеиспускания образцы спермы собирали путем мастурбации после 3-5 дней воздержания. Перед сбором эякулята обследуемым были даны инструкции о необходимости выполнения процедур для предотвращения загрязнения образцов.

Культуральный метод

Первичный посев. Для первичного посева методом истощающего мазка материал засевали стерильной бактериологической петлей на кровяно-дрожжевой и шоколадный агар. Культивирование происходило при 35⁰С. Для создания анаэробных условий шоколадный агар помещали в анаэростат. Через 16-18ч чашки Петри просматривали и при отсутствии роста выдерживали до 48ч.

Учет результатов. Оценку выросших колоний проводили полуколичественным методом с оценкой по крестам, представленной в *таблице 5* [96, 234].

Таблица 5 – Полуколичественный учет колоний

Рост на пластинчатых средах	Ответ
1-5 колоний	Единичные колонии
Рост в первом квадрате (скудный рост во втором квадрате не учитывается)	«+», скудный рост
Рост во втором квадрате (скудный рост в третьем квадрате не учитывается)	«++», умеренный рост
Рост в третьем квадрате (скудный рост в четвертом квадрате не учитывается)	«+++», обильный рост
Рост в четвертом квадрате	«++++», обильный рост

Идентификация колоний. Для видовой идентификации использовали метод времяпролетной масс-спектрометрии, позволяющий проводить протеомный

анализ с предварительной деградацией лазером. Исследования выполнены на масс-спектрометре MicroFlex LT Maldi-ToF (Bruker, Германия).

Колонию вносили в ячейку мишени, тщательно растирали, просушивали и наносили матрикс. Подготовленный образец подвергали воздействию лазера и учитывали показания.

Также наличие бактерий в эякуляте и оценку параметров эякулята и структуры сперматозоидов при бактериоспермии определяли в спермограмме и электронно-микроскопическим исследованием сперматозоидов (ЭМИС).

2.9 – Гистологическое и ультраструктурное исследование вен семенного канатика

Исследование вен выполнено 43 мальчикам с левосторонним варикоцеле в возрасте 14 лет. Биоптаты вен взяты во время проведения лапароскопической варикоцелеэктомии. Клинический материал разделен на группы: 1 группа – 12 подростков с II степенью варикоцеле, 2 группа – 31 подросток с III степенью варикоцеле.

Степень варикоцеле устанавливали физикально и сонографически: II степень включала следующие критерии: при осмотре вены определялись визуально и пальпаторно с расширением при проведении пробы Вальсальвы, консистенция и размеры яичка не изменены, сонографически диаметр вен 2 мм и более у придатка и средней трети яичка; при III степени варикоцеле – клинически определялась выраженное расширение вен лозовидного сплетения, уменьшение тургора и размеров яичка, диаметр вен 2 мм и более до нижнего полюса яичка, фазный кровоток, скорость более 6 см/с, проба Вальсальвы - резкое усиление реверсного кровотока (более 2 сек), большее прокрашивание вен яичка при ЦДК.

В качестве контроля взят биоптат дистального отдела яичковой вены у ребенка 14 лет при выполнении орхидэктомии.

Все биоптаты вен были исследованы с использованием светооптической и электронной микроскопии.

На светооптическом уровне биопсийный материал исследован у 40 пациентов (12 подростков с II степенью и 28 подростков с III степенью варикоцеле), ультраструктурным методом исследовано 43 биоптата вен (12 подростков с II степенью и 31 подросток с III степенью варикоцеле) Для гистологических препаратов применяли окраску гематоксилином и эозином. Эластические волокна в стенке вен выявляли окраской по Ван Гизону. Анализ препаратов производили при увеличении $\times 100$, $\times 200$ на микроскопе фирмы «OLYMPUS» с комплексным программным обеспечением.

Для электронно-микроскопического исследования биоптат вены фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида, с последующей дофиксацией в 1 % растворе 4-х окиси осмия. Далее обработку образца, проводили также, как и обработку образцов эякулята для ЭМИС (п. 2.7, гл. 2). 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.

2.10 – Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10 (StatSoft Inc.) с помощью методов медико-биологической статистики [18]. Выполнена предварительная оценка нормальности распределения (w -критерий Шапиро-Уилкса). Для описания количественных показателей в случае нормально распределенной совокупности использовались выборочная средняя (среднее арифметическое значение) и стандартное отклонение, ошибка среднего и 95 % доверительные интервалы средних значений, 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 χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность (ожидаемые частоты ≥ 5) и точного двустороннего критерия Фишера (ожидаемые частоты < 5). Различия между группами считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. 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 %).

ГЛАВА 3 – РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 – Динамика уровня антиспермальных антител (АСАТ) в сыворотке крови у подростков с варикоцеле

У пациентов основной группы и группы сравнения при сопоставлении уровня АСАТ в динамике по возрастам были получены следующие данные (таблица 6).

Таблица 6 – Показатели уровня антиспермальных антител (АСАТ) у подростков основной группы и группы сравнения в период 14-17 лет

Возраст	Основная группа, n = 100	Группа сравнения, n = 30	p
	Уровень АСАТ в сыворотке крови (<60 Ед/мл)		
14 лет	10,60 ± 6,53	15,24 ± 13,58	p ≤ 0,072
15 лет	23,65 ± 11,09	28,50 ± 9,41	p ≤ 0,019; p¹ ≤ 0,001; p² ≤ 0,001
16 лет	27,90 ± 10,46	29,18 ± 8,27	p ≤ 0,487; p¹ ≤ 0,005; p ² ≤ 0,767
17 лет	30,36 ± 11,23	26,51 ± 7,35	p ≤ 0,029; p ¹ ≤ 0,265; p ² ≤ 0,191

Примечание: p - статистически значимые различия показателей между основной группой и группой сравнения (p ≤ 0,05); p¹ - статистически значимые различия показателей между разными возрастными группами внутри основной группы – 14 и 15 лет, 15 и 16 лет; (p ≤ 0,05); p² - статистически значимые различия показателей между разными возрастными группами внутри группы сравнения – 14 и 15 лет (p ≤ 0,05).

Не зафиксировано ни одного случая превышения допустимого уровня АСАТ в обеих группах за весь период наблюдения.

При сопоставлении показателей уровня АСАТ между пациентами основной группы и группы сравнения было установлено, что у пациентов группы сравнения в возрасте 15 лет уровень АСАТ статистически значимо выше, чем у пациентов 15 лет при варикоцеле, а в 17 лет становится выше уровень АСАТ у подростков с варикоцеле. Сравнивая динамику уровня АСАТ внутри каждой группы, было выявлено, что в основной группе статистически значимо уровень АСАТ увеличивается у подростков в 15 и 16 лет, а в группе сравнения такое увеличение зафиксировано только в 15 лет.

Далее был проведен анализ динамики уровня АСАТ в зависимости от степени варикоцеле. Результаты представлены в *таблице 7*. Статистически значимых различий в уровне АСАТ у пациентов в одинаковых возрастных группах при II и III степенях варикоцеле не установлено.

При сравнении уровней АСАТ в зависимости от степени варикоцеле у пациентов в основной группе с показателями уровня АСАТ пациентов группы сравнения в возрасте 17 лет у подростков с варикоцеле III степени зафиксированы статистически значимо более высокие уровни АСАТ по сравнению с подростками группы сравнения аналогичного возраста. При сопоставлении показателей уровня АСАТ между возрастными группами с II и III степенью варикоцеле, статистически значимое увеличение выявлено между 14 и 15 годами для подростков с II степенью варикоцеле и между 14,15 и 16 годами у подростков с III степенью варикоцеле. В общей группе варикоцеле высокий уровень АСАТ обеспечен пациентами с III степенью варикоцеле.

Таблица 7 – Показатели уровня антиспермальных антител (АСАТ) у подростков основной группы в зависимости от степени варикоцеле и пациентов группы сравнения

Возраст	Основная группа, 1 подгруппа, n = 49	Основная группа, 2 подгруппа, n = 51	Группа сравнения, n = 30	p
Уровень АСАТ в сыворотке крови (<60 Ед/мл)				
14 лет	10,05 ± 4,75	11,13 ± 7,88	15,24 ± 13,58	p ¹ ≤ 0,405; p ² ≤ 0,047; p ³ ≤ 0,133
15 лет	23,99 ± 11,32	23,32 ± 9,41	28,50 ± 9,41	p ¹ ≤ 0,765; p ² ≤ 0,060; p ³ ≤ 0,027; p⁴ ≤ 0,001; p⁵ ≤ 0,001
16 лет	26,05 ± 8,99	29,67 ± 11,51	29,18 ± 8,27	p ¹ ≤ 0,081; p ² ≤ 0,117; p ³ ≤ 0,824; p ⁴ ≤ 0,321; p⁵ ≤ 0,003
17 лет	29,09 ± 11,23	31,58 ± 11,31	26,51 ± 7,35	p ¹ ≤ 0,269; p ² ≤ 0,218; p³ ≤ 0,016; p ⁴ ≤ 0,139; p ⁵ ≤ 0,477

Примечание: p¹ - статистически значимые различия показателей между 1 и 2 подгруппами (p ≤ 0,05); p² - статистически значимые различия показателей между 1 подгруппой и группой сравнения (p ≤ 0,025); p³ - статистически значимые различия показателей между 2 подгруппой и группой сравнения (p ≤ 0,025); p⁴ - статистически значимые различия показателей между разными возрастными группами внутри основной группы - 14 и 15 лет (p ≤ 0,012); p⁵ - статистически значимые различия показателей между разными возрастными группами внутри группы сравнения - 14 и 15 лет (p ≤ 0,012).

Поскольку в группе подростков в количестве 46 человек первичное определение уровня АСАТ в сыворотке крови было проведено до оперативной коррекции варикоцеле, было предложено рассматривать эти результаты в качестве маркера аутоиммунных реакций, инициированных оперативным вмешательством и обусловленных возможным повреждением гематотестикулярного барьера.

У остальных 54 подростков, у которых операция была в анамнезе за 1-2 года до начала исследования, была оценена динамика уровня АСАТ. Показатели уровня АСАТ условных групп в зависимости от давности оперативного вмешательства были сопоставлены между собой и с показателями уровня АСАТ пациентов группы сравнения. Результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Показатели уровня антиспермальных антител (АСАТ) у подростков основной группы в зависимости от давности оперативного вмешательства и пациентов группы сравнения

Возраст	Основная группа, 3 подгруппа, n = 46	Основная группа, 4 подгруппа, n = 54	Группа сравнения, n = 30	p
Уровень АСАТ в сыворотке крови (<60 Ед/мл)				
14 лет	10,53 ± 7,68	10,66 ± 5,43	15,24 ± 13,58	p ¹ ≤ 0,923; p ² ≤ 0,088; p ³ ≤ 0,080
15 лет	23,47 ± 11,68	23,99 ± 10,55	28,50 ± 9,41	p ¹ ≤ 0,817; p ² ≤ 0,042; p ³ ≤ 0,047; p⁴ ≤ 0,001; p⁵ ≤ 0,001
16 лет	28,24 ± 11,76	27,61 ± 9,31	29,18 ± 8,27	p ¹ ≤ 0,767; p ² ≤ 0,683; p ³ ≤ 0,428; p ⁴ ≤ 0,050; p ⁵ ≤ 0,062
17 лет	31,62 ± 12,14	29,29 ± 10,38	26,51 ± 7,35	p ¹ ≤ 0,309; p² ≤ 0,025; p ³ ≤ 0,156; p ⁴ ≤ 0,177; p ⁵ ≤ 0,378

Примечание: p¹ - статистически значимые различия показателей между 3 и 4 подгруппами (p ≤ 0,05); p² - статистически значимые различия показателей между 3 подгруппой и группой сравнения (p ≤ 0,025); p³ - статистически значимые различия показателей между 4 подгруппой и группой сравнения (p ≤ 0,025); p⁴ - статистически значимые различия показателей между разными возрастными группами внутри основной группы – 14 и 15 лет, 15 и 16 лет; (p ≤ 0,012); p⁵ - статистически значимые различия показателей между разными возрастными группами внутри группы сравнения – 14 и 15 лет; (p ≤ 0,012).

Не установлено статистически значимых различий в уровне АСАТ у пациентов в возрасте 14 лет, которым еще не проведена была оперативная коррекция варикоцеле, и у пациентов, перенесших варикоцелэктомия. В дальнейшем послеоперационном периоде также не отмечено статистически значимых различий в уровне АСАТ между группами одного возраста.

При проведении сравнения уровней АСАТ у пациентов основной группы в зависимости от давности проведения варикоцелэктомии и у пациентов группы сравнения зафиксирован статистически значимо более высокий уровень АСАТ в 17 лет у пациентов из группы до варикоцелэктомии по сравнению с показателями у подростков из группы сравнения аналогичного возраста. В пределах основной группы статистически значимое увеличение показателей АСАТ между разными возрастами установлено в группе до варикоцелэктомии в 15 и 16 лет, а у пациентов с варикоцелэктомией только в возрасте 15 лет.

3.2 – Содержание антиспермальных антител (АСАТ) в эякуляте у подростков с варикоцеле

Пациентам, достигшим возраста 17 лет, было проведено определение уровня АСАТ в семенной жидкости. У подростков с варикоцеле в 85 случаях (85 %) АСАТ не были обнаружены, а в 9 случаях (9 %) определялся титр 1:50, что соответствовало 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.

3.3 – Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови у подростков с варикоцеле

При сопоставлении показателей уровней цитокинов в сыворотке крови в динамике за период с 14 до 17 лет у подростков с варикоцеле и подростков группы сравнения были получены следующие результаты (таблица 9).

Таблица 9 – Уровни цитокинов у пациентов основной группы и группы сравнения в период 14-17 лет в сыворотке крови

Возраст	Основная группа, n = 100	Группа сравнения, n = 30	p
IL-1β, пг/мл			
14 лет	0,47 \pm 0,96	0,26 \pm 0,46	p \leq 0,104
15 лет	0,26 \pm 0,56	0,17 \pm 0,37	p \leq 0,331
16 лет	0,27 \pm 0,56	0,07 \pm 0,15	p \leq 0,003
17 лет	0,19 \pm 0,40	0,18 \pm 0,42	p \leq 0,912
IL-4, пг/мл			
14 лет	0,38 \pm 0,98	0,64 \pm 0,98	p \leq 0,209
15 лет	0,67 \pm 2,24	0,27 \pm 0,51	p \leq 0,095
16 лет	0,94 \pm 2,25	0,80 \pm 0,93	p \leq 0,634
17 лет	1,12 \pm 2,83	0,94 \pm 1,08	p \leq 0,601
IL-6, пг/мл			
14 лет	0,58 \pm 1,49	0,11 \pm 0,42	p \leq 0,006
15 лет	0,43 \pm 1,06	0,16 \pm 0,61	p \leq 0,085
16 лет	0,39 \pm 1,02	0,07 \pm 0,16	p \leq 0,002
17 лет	0,43 \pm 1,21	0,22 \pm 0,48	p \leq 0,163
IL-8, пг/мл			
14 лет	17,60 \pm 25,22	8,27 \pm 5,50	p \leq 0,001
15 лет	16,20 \pm 24,32	7,78 \pm 4,07	p \leq 0,001
16 лет	16,90 \pm 23,80	7,20 \pm 4,75	p \leq 0,001
17 лет	14,04 \pm 19,25	9,85 \pm 11,86	p \leq 0,151
IL-10, пг/мл			
14 лет	8,38 \pm 8,76	8,79 \pm 7,20	p \leq 0,795
15 лет	9,87 \pm 12,82	6,61 \pm 4,66	p \leq 0,035
16 лет	10,28 \pm 14,02	6,49 \pm 7,16	p \leq 0,005
17 лет	9,48 \pm 15,79	9,67 \pm 13,01	p \leq 0,947
TNFα, пг/мл			
14 лет	7,74 \pm 9,48	5,66 \pm 5,19	p \leq 0,124
15 лет	7,72 \pm 10,15	4,96 \pm 5,12	p \leq 0,047
16 лет	8,10 \pm 13,81	5,26 \pm 5,14	p \leq 0,091
17 лет	6,07 \pm 5,68	4,81 \pm 5,73	p \leq 0,457
VEGF, мЕд/мл			
14 лет	210,68 \pm 140,57	219,91 \pm 146,14	p \leq 0,760
15 лет	203,78 \pm 136,96	199,51 \pm 139,36	p \leq 0,882
16 лет	202,40 \pm 127,60	200,12 \pm 145,46	p \leq 0,938
17 лет	211,97 \pm 150,94	216,74 \pm 154,79	p \leq 0,881

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

При сопоставлении полученных данных было установлено, что в возрасте 14 лет у подростков с варикоцеле присутствовали статистически значимо более высокие уровни IL-6 и IL-8.

При оценке полученных результатов в возрасте 15 лет у подростков с варикоцеле наблюдался более высокий уровень всех определяемых цитокинов, но статистически значимое повышение выявлено для IL-8, IL-10 и TNF α . Отмечено, что уровень TNF α у подростков с варикоцеле в 15 лет не стал выше по сравнению с аналогичным показателем в 14 лет, а статистически значимую разницу обеспечило снижение уровня этого показателя у подростков группы сравнения в 15 лет.

В возрасте 16 лет также прослеживался более высокий уровень всех определяемых цитокинов в основной группе, но статистически значимое увеличение выявлено для IL-1 β , IL-6, IL-8 и IL-10 по сравнению с группой пациентов без варикоцеле.

В основной группе на завершающем этапе обследования в возрасте 17 лет также выявлены более высокие уровни всех цитокинов относительно группы сравнения, но статистически значимых различий не установлено.

Следует отметить, что, хотя и были установлены статистически значимо более высокие показатели IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α , IL-10 в основной группе, их уровень сохранялся стабильным на протяжении всего исследования.

Дальнейший этап работы заключался в сопоставлении показателей уровней цитокинов в зависимости от степени варикоцеле, результаты представлены в *таблице 10*.

Таблица 10 - Уровень цитокинов у пациентов основной группы при II и III степени варикоцеле за период 14-17 лет в сыворотке крови

Возраст	Основная группа, 1 подгруппа, n = 49	Основная группа, 2 подгруппа, n = 51	Группа сравнения, n = 30	p
IL-1β, пг/мл				
14 лет	0,55 \pm 1,13	0,39 \pm 0,78	0,26 \pm 0,44	P ¹ \leq 0,415; P ² \leq 0,109; P ³ \leq 0,342
15 лет	0,29 \pm 0,57	0,23 \pm 0,55	0,17 \pm 0,37	p ¹ \leq 0,597; p ² \leq 0,262; p ³ \leq 0,574
16 лет	0,30 \pm 0,55	0,25 \pm 0,57	0,07 \pm 0,15	p ¹ \leq 0,659; p² \leq 0,008; p ³ \leq 0,038
17 лет	0,22 \pm 0,42	0,15 \pm 0,39	0,18 \pm 0,42	p ¹ \leq 0,372; p ² \leq 0,690; p ³ \leq 0,751
IL-4, пг/мл				
14 лет	0,27 \pm 0,98	0,49 \pm 1,16	0,64 \pm 0,98	P ¹ \leq 0,260; P ² \leq 0,083; P ³ \leq 0,535
15 лет	0,40 \pm 1,49	0,93 \pm 2,77	0,27 \pm 0,51	p ¹ \leq 0,234; p ² \leq 0,571; p ³ \leq 0,103
16 лет	0,51 \pm 1,29	1,35 \pm 3,15	0,80 \pm 0,93	p ¹ \leq 0,080; p ² \leq 0,245; p ³ \leq 0,247
17 лет	0,47 \pm 0,94	1,74 \pm 3,77	0,94 \pm 1,08	p¹ \leq 0,022; p ² \leq 0,052; p ³ \leq 0,161
IL-6, пг/мл				
14 лет	0,59 \pm 1,49	0,57 \pm 1,51	0,11 \pm 0,42	p ¹ \leq 0,946; p ² \leq 0,035; p ³ \leq 0,044
15 лет	0,24 \pm 0,53	0,60 \pm 1,38	0,16 \pm 0,61	p ¹ \leq 0,083; p ² \leq 0,558; p ³ \leq 0,048
16 лет	0,28 \pm 0,81	0,49 \pm 1,18	0,07 \pm 0,16	p ¹ \leq 0,315; p ² \leq 0,093; p³ \leq 0,017
17 лет	0,24 \pm 0,89	0,61 \pm 1,44	0,22 \pm 0,48	p ¹ \leq 0,124; p ² \leq 0,899; p ³ \leq 0,079
IL-8, пг/мл				
14 лет	17,83 \pm 25,32	17,37 \pm 25,38	8,27 \pm 5,50	p ¹ \leq 0,927; p² \leq 0,012; p³ \leq 0,015
15 лет	14,04 \pm 17,37	18,28 \pm 29,57	7,78 \pm 4,07	p ¹ \leq 0,381; p² \leq 0,017; p³ \leq 0,014

Продолжение таблицы 10

16 лет	12,69 ± 15,70	20,94 ± 29,17	7,20 ± 4,75#	$p^1 \leq 0,080$; $p^2 \leq 0,025$; $p^3 \leq 0,001$
17 лет	11,69 ± 12,93	16,29 ± 23,73	9,85 ± 11,86	$p^1 \leq 0,229$; $p^2 \leq 0,519$; $p^3 \leq 0,107$
IL-10, пг/мл				
14 лет	8,61 ± 7,68	8,15 ± 9,76	8,79 ± 7,20	$p^1 \leq 0,794$; $p^2 \leq 0,916$; $p^3 \leq 0,736$
15 лет	7,92 ± 7,27	11,74 ± 16,35	6,61 ± 4,66	$p^1 \leq 0,132$; $p^2 \leq 0,332$; $p^3 \leq 0,038$
16 лет	8,47 ± 8,35	12,02 ± 17,77	6,49 ± 7,16	$p^1 \leq 0,201$; $p^2 \leq 0,266$; $p^3 \leq 0,051$
17 лет	8,08 ± 8,38	8,82 ± 14,47	9,67 ± 13,01	$p^1 \leq 0,383$; $p^2 \leq 0,552$; $p^3 \leq 0,761$
TNFα, пг/мл				
14 лет	7,51 ± 9,28	7,96 ± 9,77	5,66 ± 5,19	$p^1 \leq 0,814$; $p^2 \leq 0,261$; $p^3 \leq 0,171$
15 лет	6,34 ± 6,20	8,26 ± 9,05	4,96 ± 5,12	$p^1 \leq 0,218$; $p^2 \leq 0,289$; $p^3 \leq 0,040$
16 лет	6,09 ± 5,78	7,77 ± 7,51	5,26 ± 5,14	$p^1 \leq 0,212$; $p^2 \leq 0,510$; $p^3 \leq 0,078$
17 лет	5,33 ± 4,96	6,77 ± 6,26	4,81 ± 8,73	$p^1 \leq 0,206$; $p^2 \leq 0,766$; $p^3 \leq 0,284$
VEGF, мЕд/мл				
14 лет	207,97 ± 140,57	213,28 ± 141,55	219,91 ± 146,14	$p^1 \leq 0,851$; $p^2 \leq 0,721$; $p^3 \leq 0,842$
15 лет	209,31 ± 140,88	198,47 ± 134,27	199,51 ± 139,36	$p^1 \leq 0,694$; $p^2 \leq 0,723$; $p^3 \leq 0,968$
16 лет	209,12 ± 131,25	195,95 ± 124,95	200,12 ± 145,46	$p^1 \leq 0,608$; $p^2 \leq 0,759$; $p^3 \leq 0,884$
17 лет	214,88 ± 138,73	209,17 ± 163,14	216 ± 1,54	$p^1 \leq 0,851$; $p^2 \leq 0,957$; $p^3 \leq 0,835$

Примечание: p^1 - статистически значимые различия показателей между 1 и 2 подгруппами ($p \leq 0,05$); p^2 - статистически значимые различия показателей между 1 подгруппой и группой сравнения ($p \leq 0,025$); p^3 - статистически значимые различия показателей между 2 подгруппой и группой сравнения ($p \leq 0,025$).

Только в возрасте 17 лет при III степени варикоцеле был зафиксирован статистически значимо более высокий уровень IL-4 по сравнению с подростками с II степенью варикоцеле.

Статистически значимые различия выявлены между группами с II и III степенью варикоцеле и группой сравнения в уровнях IL-8 в 14 и 15 лет и IL-1 β и IL-8 в 16 лет. В остальных случаях установлен статистически значимо более высокий уровень IL-6 у пациентов из группы с III степенью варикоцеле в возрасте 16 лет по сравнению с аналогичными показателями у подростков из группы сравнения.

В возрасте 14 лет выявлены статистически значимые различия в уровне IL-8 между II и III степенью варикоцеле и группой сравнения, при этом между разными степенями варикоцеле статистически значимых различий не установлено. Таким образом, в общей группе варикоцеле высокий уровень указанных цитокинов в равной степени обеспечен пациентами как II, так и III степени варикоцеле.

У пациентов 15 лет при варикоцеле обеих групп статистически значимо более высокие уровни цитокинов по сравнению с группой сравнения зафиксирован только для IL-8.

В возрастном периоде 16 лет статистически значимые различия установлены для цитокинов IL-1 β (II степень варикоцеле) и IL-8 между пациентами с варикоцеле обеих групп и группой сравнения, а для IL-6 статистически значимо различные результаты выявлены для пациентов с группой сравнения и варикоцеле III степени.

При сопоставлении данных пациентов обеих групп с варикоцеле и группы сравнения в возрасте 17 лет статистически значимые различия в уровнях всех исследуемых цитокинов не установлены.

На заключительном этапе исследования было проведено сопоставление уровня цитокинов в зависимости от давности варикоцелэктомии. У части пациентов определение уровня цитокинов в крови было начато до оперативной коррекции (группа «до варикоцелэктомии»), а у других пациентов хирургическое лечение варикоцеле было выполнено за 1-2 года до начала исследования (группа «варикоцелэктомия в 12-13 лет»). Результаты приведены в *таблице 11*.

Таблица 11 - Уровень цитокинов у пациентов основной группы в зависимости от сроков варикоцелэктомии в период 14-17 лет в сыворотке крови

Возраст	Основная группа, 3 подгруппа, n = 46	Основная группа, 4 подгруппа, n = 54	Группа сравнения, n = 30	p
IL-1β, пг/мл				
14 лет	0,72 \pm 1,31	0,25 \pm 0,41	0,26 \pm 0,46	p¹ \leq 0,020; p ² \leq 0,028; p ³ \leq 0,920
15 лет	0,36 \pm 0,71	0,18 \pm 0,37	0,17 \pm 0,37	p ¹ \leq 0,111; p ² \leq 0,123; p ³ \leq 0,907
16 лет	0,36 \pm 0,69	0,20 \pm 0,40	0,07 \pm 0,15	p ¹ \leq 0,155; p² \leq 0,007; p ³ \leq 0,028
17 лет	0,23 \pm 0,45	0,17 \pm 0,37	0,18 \pm 0,42	p ¹ \leq 0,487; p ² \leq 0,639; p ³ \leq 0,915
IL-4, пг/мл				
14 лет	0,53 \pm 1,26	0,26 \pm 0,64	0,64 \pm 0,98	p ¹ \leq 0,186; p ² \leq 0,703; p ³ \leq 0,062
15 лет	1,02 \pm 3,15	0,37 \pm 0,89	0,27 \pm 0,51	p ¹ \leq 0,113; p ² \leq 0,123; p ³ \leq 0,506
16 лет	1,35 \pm 3,22	0,59 \pm 1,45	0,80 \pm 0,93	p ¹ \leq 0,147; p ² \leq 0,283; p ³ \leq 0,426
17 лет	0,94 \pm 2,13	1,26 \pm 3,32	0,94 \pm 1,08	p ¹ \leq 0,559; p ² \leq 0,999; p ³ \leq 0,517
IL-6, пг/мл				
14 лет	0,78 \pm 1,57	0,41 \pm 1,42	0,11 \pm 0,42	p ¹ \leq 0,217; p² \leq 0,007; p ³ \leq 0,149
15 лет	0,70 \pm 1,44	0,19 \pm 1,47	0,16 \pm 0,61	p¹ \leq 0,021; p² \leq 0,025; p ³ \leq 0,811
16 лет	0,67 \pm 1,42	0,15 \pm 0,29	0,07 \pm 0,16	p¹ \leq 0,016; p² \leq 0,006; p ³ \leq 0,113
17 лет	0,58 \pm 1,35	0,32 \pm 1,07	0,22 \pm 0,48	p ¹ \leq 0,088; p² \leq 0,002; p ³ \leq 0,569

IL-8, пг/мл				
14 лет	23,92 ± 29,99	12,21 ± 18,98	8,27 ± 5,50	p¹ ≤ 0,024; p² ≤ 0,001; p ³ ≤ 0,158
15 лет	23,70 ± 34,14	9,82 ± 4,95	7,78 ± 4,07	p¹ ≤ 0,007; p² ≤ 0,002; p ³ ≤ 0,044
16 лет	25,42 ± 32,77	9,64 ± 5,47	7,20 ± 4,75	p¹ ≤ 0,001; p² ≤ 0,004; p ³ ≤ 0,035
17 лет	19,35 ± 26,28	9,65 ± 5,80	9,85 ± 11,86	p¹ ≤ 0,018; p ² ≤ 0,038; p ³ ≤ 0,930
IL-10, пг/мл				
14 лет	8,76 ± 10,10	8,05 ± 7,51	8,79 ± 7,20	p ¹ ≤ 0,695; p ² ≤ 0,988; p ³ ≤ 0,657
15 лет	10,06 ± 13,31	9,70 ± 12,51	6,61 ± 4,66	p ¹ ≤ 0,889; p ² ≤ 0,111; p ³ ≤ 0,107
16 лет	9,60 ± 11,22	10,86 ± 16,11	6,94 ± 7,16	p ¹ ≤ 0,646; p ² ≤ 0,144; p ³ ≤ 0,091
17 лет	7,32 ± 7,16	9,46 ± 8,02	9,67 ± 13,01	p ¹ ≤ 0,162; p ² ≤ 0,370; p ³ ≤ 0,936
TNFα, пг/мл				
14 лет	9,90 ± 10,59	5,91 ± 8,08	5,66 ± 5,19	p ¹ ≤ 0,039; p² ≤ 0,023; p ³ ≤ 0,864
15 лет	9,53 ± 8,55	6,18 ± 7,85	4,96 ± 5,12	p ¹ ≤ 0,064; p² ≤ 0,004; p ³ ≤ 0,442
16 лет	9,43 ± 8,03	6,97 ± 9,29	5,26 ± 5,14	p ¹ ≤ 0,123; p² ≤ 0,007; p ³ ≤ 0,229
17 лет	8,14 ± 6,77	6,39 ± 9,80	4,81 ± 8,53	p ¹ ≤ 0,124; p ² ≤ 0,080; p ³ ≤ 0,347
VEGF, мЕд/мл				
14 лет	231,42 ± 144,91	193,00 ± 135,60	219,91 ± 146,14	p ¹ ≤ 0,176; p ² ≤ 0,748; p ³ ≤ 0,432
15 лет	218,97 ± 144,49	190,84 ± 130,15	199,51 ± 139,36	p ¹ ≤ 0,312; p ² ≤ 0,559; p ³ ≤ 0,780
16 лет	219,43 ± 134,01	187,89 ± 121,24	200,12 ± 145,46	p ¹ ≤ 0,223; p ² ≤ 0,521; p ³ ≤ 0,661
17 лет	225,03 ± 138,73	201,27 ± 133,89	216,74 ± 154,79	p ¹ ≤ 0,444; p ² ≤ 0,826; p ³ ≤ 0,646

Примечание: p¹ - статистически значимые различия показателей между 3 и 4 подгруппами (p ≤ 0,05); p² - статистически значимые различия показателей между 3 подгруппой и группой сравнения (p ≤ 0,025); p³ - статистически значимые различия показателей между 4 подгруппой и группой сравнения (p ≤ 0,025).

Из полученных данных следует, что у подростков, которым на момент обследования еще не проводилось хирургическое лечение варикоцеле, статистически значимо более высокие уровни были выявлены в отношении провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-8 и TNF α по сравнению с группой пациентов с варикоцелеэктомией, выполненной в 12-13 лет.

Далее, в возрасте 15 и 16 лет выявленная тенденция сохранялась, но статистически значимое повышение было обнаружено только для IL-6 и IL-8 и TNF α , но также статистически значимо более высокий уровень IL-8 выявлен и для группы с варикоцелеэктомией в анамнезе в обеих возрастных категориях и IL-1 β в 16 лет по сравнению с пациентами с недавней варикоцелеэктомией.

В 17 лет статистически значимо более высокий уровень был отмечен для IL-8 у пациентов из группы до оперативного лечения варикоцеле.

При сопоставлении полученных данных в группах до оперативного лечения, после варикоцелеэктомии в анамнезе и группой сравнения выявлен статистически значимо более высокий уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF α в возрасте 14, 15, 16 лет у пациентов с более поздним оперативным вмешательством. У подростков из группы с операцией в анамнезе по сравнению с подростками из группы сравнения статистически значимых различий в уровнях цитокинов не выявлено. В 17 лет у подростков с более поздней варикоцелеэктомией сохранялись статистически значимо более высокие уровни IL-6 и IL-8, чем в группе сравнения.

3.4 – Содержание цитокинов в эякуляте у подростков с варикоцеле

При оценке уровня цитокинов в эякуляте у подростков основной группы и группы сравнения были получены следующие результаты (*таблица 12*).

Оценка полученных данных показала, что у подростков с варикоцеле наблюдались статистически значимо более высокие уровни всех исследованных провоспалительных цитокинов, а также IL-10.

Таблица 12 - Показатели уровня цитокинов в эякуляте у подростков основной группы и группы сравнения

Показатель	Основная группа, n = 100	Группа сравнения, n = 30	p
IL-1 β , пг/мл	9,02 \pm 28,12	2,80 \pm 5,24	p \leq 0,038
IL-4, пг/мл	3,42 \pm 4,77	2,63 \pm 5,27	p \leq 0,463
IL-6, пг/мл	10,20 \pm 28,65	3,73 \pm 8,45	p \leq 0,048
IL-10, пг/мл	16,81 \pm 25,21	2,06 \pm 2,43	p \leq 0,001
TNF α , пг/мл	15,64 \pm 23,15	2,64 \pm 3,31	p \leq 0,001

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

Поскольку при III степени диагностировались более выраженные изменения вен лозовидного сплетения, определяемые визуально, следовательно, предполагался более выраженный воспалительный процесс и ожидался более высокий уровень цитокинов в эякуляте. Сопоставление показателей уровней цитокинов в эякуляте в зависимости от степени варикоцеле представлены в *таблице 13*.

Таблица 13 - Показатели уровней цитокинов в эякуляте в группах в зависимости от степени варикоцеле и группой сравнения

Показатель	Основная группа, 1 подгруппа, n = 49	Основная группа, 2 подгруппа, n = 51	Группа сравнения, n = 30	p
IL-1 β , пг/мл	4,91 \pm 7,33	13,39 \pm 39,15	2,80 \pm 5,24	p ¹ \leq 0,139; p ² \leq 0,138; p ³ \leq 0,061
IL- 4, пг/мл	2,67 \pm 2,92	3,94 \pm 5,88	2,63 \pm 5,27	p ¹ \leq 0,127; p ² \leq 0,967; p ³ \leq 0,302
IL- 6, пг/мл	6,78 \pm 0,13	13,87 \pm 39,47	3,73 \pm 8,45	p ¹ \leq 0,225; p ² \leq 0,149; p ³ \leq 0,086
IL-10, пг/мл	17,84 \pm 29,55	16,15 \pm 20,32	2,06 \pm 2,43	p ¹ \leq 0,740; p² \leq 0,001; p³ \leq 0,001
TNF α , пг/мл	14,72 \pm 18,79	16,65 \pm 26,81	2,64 \pm 3,31	p ¹ \leq 0,676; p² \leq 0,001; p³ \leq 0,001

Примечание: p¹ - статистически значимые различия показателей между 1 и 2 подгруппами (p \leq 0,05); p² - статистически значимые различия показателей между 1 подгруппой и группой сравнения (p \leq 0,05); p³ - статистически значимые различия показателей между 2 подгруппой и группой сравнения (p \leq 0,05).

Полученные результаты демонстрируют, что статистически значимых различий в уровнях цитокинов между группами с II и III степенью варикоцеле не установлено.

Выявлены статистически значимо более высокие уровни IL-10 и TNF α у подростков обеих групп с варикоцеле, по сравнению с подростками группы сравнения.

Результаты сопоставления уровней цитокинов между группами в зависимости от давности варикоцелеэктомии и группой сравнения представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Показатели уровней цитокинов в эякуляте между группами в зависимости от давности варикоцелеэктомии и группой сравнения

Показатель	Основная группа, 1 подгруппа, n = 46	Основная группа, 2 подгруппа, n = 54	Группа сравнения, n = 30	p
IL-1 β , пг/мл	3,80 \pm 3,35	13,46 \pm 37,73	2,80 \pm 5,24	p ¹ \leq 0,063; p ² \leq 0,356; p ³ \leq 0,044
IL-4, пг/мл	3,02 \pm 4,47	3,76 \pm 5,02	2,63 \pm 5,27	p ¹ \leq 0,436; p ² \leq 0,281; p ³ \leq 0,339
IL-6, пг/мл	4,75 \pm 3,05	14,85 \pm 38,43	3,73 \pm 8,45	p ¹ \leq 0,060; p ² \leq 0,526; p ³ \leq 0,044
IL-10, пг/мл	14,92 \pm 15,50	18,41 \pm 31,26	2,06 \pm 2,43	p ¹ \leq 0,471; p² \leq 0,001; p³ \leq 0,003
TNF α , пг/мл	12,46 \pm 10,29	18,35 \pm 29,92	2,64 \pm 3,31	p ¹ \leq 0,178; p² \leq 0,001; p³ \leq 0,003

Примечание: p¹ - статистически значимые различия показателей между 3 4 подгруппами (p \leq 0,05); p² - статистически значимые различия показателей между 3 подгруппой и группой сравнения (p \leq 0,025); p³ - статистически значимые различия показателей между 4 подгруппой и группой сравнения (p \leq 0,025).

Статистически значимых различий в уровнях цитокинов между группами в зависимости от давности варикоцелеэктомии не обнаружено. Но при сопоставлении результатов между обеими группами в зависимости от давности варикоцелеэктомии и группой сравнения установлены статистически более высокие уровни TNF α и IL-10 у пациентов в обеих подгруппах при варикоцеле.

3.5 – Характеристика соматометрических показателей у подростков с варикоцеле

В обеих группах за весь период исследования не выявлено ни одного пациента с избыточной массой тела. При оценке массы тела с использованием центильных таблиц было установлено, что у четырех подростков в основной группе и у одного подростка 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 расценивались как пониженная и средняя соответственно. В 15 лет у подростков отмечалось распределение показателя массы тела в пределах 25–75 % перцентилей, включающих 3,4,5 интервалы. 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 %) человека с нормальными показателями роста (4,5 центильные интервалы), 39 (39 %) пациентов имели рост выше среднего (6 центильный интервал) и у 13 (13 %) подростков диагностирован рост, соответствующий 90 – 97 перцентилем. Рост ниже среднего выявлен у двух (2 %) человек. 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 %) человек. Такая тенденция в показателях роста сохранялась на протяжении всего исследования в последующие годы.

Оценка индекса массы тела (ИМТ) у подростков обеих групп не выявила его превышения, диагностированные показатели либо укладывались в пределы нормы, либо указывали на дефицит массы тела.

Результаты определения ИМТ у подростков основной группы и группы сравнения преведены в *таблице 15*.

Таблица 15 – Результаты определения индекса массы тела (ИМТ) у подростков основной группы и группы сравнения

Возраст	Основная группа, n=100		Группа сравнения, n=30		p
	Средняя величина ИМТ	Количество человек с дефицитом массы тела	Средняя величина ИМТ	Количество человек с дефицитом массы тела	
14 лет	18,24 ± 1,80	65(65%)	18,49 ± 1,65	12(49%)	p ¹ ≤0,476; p²≤0,015
15 лет	18,86 ± 1,92	55(55%)	19,11 ± 1,84	10(33,3%)	p ¹ ≤0,322; p²≤0,031
16 лет	19,52 ± 2,03	37(37%)	19,83 ± 1,91	5(16,6%)	p ¹ ≤0,443; p²≤0,016
17 лет	20,06 ± 2,07	25(25%)	20,57 ± 2,04	2(6,7%)	p ¹ ≤0,233; p²≤0,038

Примечание: p¹ - статистически значимые различия между группами по среднему значению ИМТ (p ≤0,05); P² - статистически значимые различия между группами по количеству человек с дефицитом массы тела (p ≤0,05).

Из полученных результатов видно, что среднее значение ИМТ ниже нормы зафиксировано у подростков с варикоцеле в возрасте 14 лет. В остальных возрастных показателях он укладывался в пределы нормальных значений. В группе сравнения средняя величина ИМТ выше во все возрастные периоды, 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.

Выполнено сравнение показателей ИМТ у подростков с II и III степенью варикоцеле, результаты представлены в *таблице 16*.

Таблица 16 - Результаты определения индекса массы тела (ИМТ) у подростков с II и III степенью варикоцеле

Возраст	Основная группа, 1 подгруппа, n=49		Основная группа, 2 подгруппа, n=51		p
	Средняя величина ИМТ	Количество человек с дефицитом массы тела	Средняя величина ИМТ	Количество человек с дефицитом массы тела	
14 лет	18,61 ± 2,04	31(63,3%)	17,93 ± 1,49	34(66,7%)	p ¹ ≤0,061; p ² ≤0,731
15 лет	19,22 ± 2,14	26(53%)	18,49 ± 1,59	29(56,9%)	p ¹ ≤0,056; p ² ≤0,069
16 лет	19,95 ± 2,21	17(34,7%)	19,07 ± 1,73	20(39,2%)	p¹≤0,029; p ² ≤0,641
17 лет	20,54 ± 2,25	11(22,4%)	19,60 ± 1,78	14(27,5%)	p¹≤0,020; p ² ≤0,556

Примечание: p¹ - статистически значимые различия между 1 и 2 подгруппами по среднему значению ИМТ (p ≤ 0,05); P² - статистически значимые различия между 1 и 2 подгруппами по количеству человек с дефицитом массы тела (p ≤ 0,05).

У подростков с III степенью варикоцеле в возрасте 14 и 15 лет зафиксировано значение ИМТ ниже нормы, а также статистически значимо более низкие значения ИМТ в возрасте 16 и 17 лет по сравнению с подростками той же возрастной категории с варикоцеле II степени. Не установлено различий между указанными группами в количестве человек с дефицитом массы тела.

3.6 – Эндокринный профиль у подростков с варикоцеле

При сравнении уровня гормонов пациентов основной группы и группы сравнения в динамике по возрастам были получены следующие данные (таблица 17).

Таблица 17 – Показатели уровня гормонов у пациентов основной группы и группы сравнения в период 14-17 лет

Возраст	Основная группа, n = 100	Группа сравнения, n = 30	p
ФСГ (1,6- 8,7 МЕ/л)			
14 лет	3,79 ± 1,99	3,70 ± 2,09	p ≤ 0,834
15 лет	3,91 ± 2,14	4,23 ± 2,21	p ≤ 0,480
16 лет	4,03 ± 2,43	3,89 ± 2,40	p ≤ 0,780
17 лет	4,04 ± 2,54	4,48 ± 2,74	p ≤ 0,394
ЛГ (0,70 – 7,80 МЕ/л)			
14 лет	2,67 ± 1,61	3,14 ± 1,35	p ≤ 0,115
15 лет	2,74 ± 1,60	3,79 ± 2,00	p ≤ 0,008
16 лет	2,86 ± 1,63	3,53 ± 1,19	p ≤ 0,015
17 лет	2,84 ± 1,61	4,06 ± 1,92	p ≤ 0,001
Тестостерон (6,0 – 26,0 нмоль /л)			
14 лет	10,98 ± 4,90	16,46 ± 7,55	p ≤ 0,003
15 лет	13,97 ± 5,75	22,38 ± 10,41	p ≤ 0,001
16 лет	16,76 ± 6,49	20,56 ± 5,34	p ≤ 0,001
17 лет	19,68 ± 8,02	23,25 ± 8,46	p ≤ 0,047
Эстрадиол (0,00 – 146,10 пмоль/л)			
14 лет	149,47 ± 66,33	134,88 ± 56,68	p ≤ 0,237
15 лет	162,11 ± 68,69	190,89 ± 56,62	p ≤ 0,019
16 лет	168,22 ± 66,61	163,92 ± 50,64	p ≤ 0,706
17 лет	174,32 ± 66,61	165,08 ± 42,96	p ≤ 0,381

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

Для ФСГ, ЛГ и тестостерона их средние значения укладывались в пределы референтного интервала на протяжении всего исследования, для эстрадиола

отмечалось его превышение. Выявлен статистически значимо более высокий уровень ЛГ у подростков группы сравнения в 15,16 и 17 лет по сравнению с пациентами с варикоцеле аналогичного возраста.

При сравнении показателей основной группы и группы сравнения выявлен статистически более высокий уровень тестостерона у подростков без варикоцеле во все возрастные периоды по сравнению с пациентами с варикоцеле такой же возрастной категории. Статистически значимая разница в уровне эстрадиола зафиксирована только в возрасте 15 лет между исследуемыми группами.

Кроме того, был проведен анализ частоты встречаемости отклонений показателей уровня гормонов от референтного интервала в каждой группе. Учитывались показатели, выходящие за границы референтного интервала, а также находящиеся на верхней и нижней границе нормы. Результаты анализа представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Частота встречаемости отклонения показателей уровня гормонов от референтного интервала в основной группе и группе сравнения

Возраст	Основная группа, n = 100	Группа сравнения, n = 30	p
ФСГ (1,60 – 8,70 МЕ/л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	3(3 %)	0	$p \leq 0,081$
15 лет	5(5 %)	0	$p \leq 0,023$
16 лет	8(8 %)	0	$p \leq 0,003$
17 лет	7(7 %)	2(6,6 %)	$p \leq 0,718$
ФСГ (1,6 – 8,70 МЕ/л), нижняя граница или ниже референтного интервала			
14 лет	12(12 %)	6(20 %)	$p \leq 0,417$
15 лет	13(13 %)	1(3,3 %)	$p \leq 0,035$
16 лет	17(17 %)	2(6,6 %)	$p \leq 0,034$
17 лет	13(13%)	1(3,3 %)	$p \leq 0,035$

ЛГ (0,70 – 7,80 МЕ/л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	2(2 %)	0	$p \leq 0,552$
15 лет	2(2 %)	0	$p \leq 0,552$
16 лет	1(1 %)	0	$p \leq 1,000$
17 лет	0	0	-
ЛГ (0,70 – 7,80 МЕ/л), нижняя граница или ниже референтного интервала			
14 лет	4(4 %)	0	$p \leq 0,301$
15 лет	2(2 %)	0	$p \leq 0,552$
16 лет	0	0	-
17 лет	0	0	-
Тестостерон (6,0 – 26,0 нмоль /л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	0 (0 %)	3(10 %)	$p \leq 0,035$
15 лет	1(1 %)	5(16,6 %)	$p \leq 0,015$
16 лет	6(6 %)	2(6,6%)	$p \leq 0,719$
17 лет	11(11%)	9(30 %)	$p \leq 0,025$
Тестостерон (6,0 – 26,0 нмоль /л), нижняя граница или ниже референтного интервала			
14 лет	28(28 %)	4(13,3 %)	$p \leq 0,054$
15 лет	12(12 %)	1(3,3 %)	$p \leq 0,061$
16 лет	10(10 %)	1(3,3 %)	$p \leq 0,100$
17 лет	7(7 %)	0 (0 %)	$p \leq 0,007$
Эстрадиол (0,00 – 146,10 пмоль/л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	16(16 %)	6(20 %)	$p \leq 0,814$
15 лет	25(25 %)	15(50 %)	$p \leq 0,017$
16 лет	30(30 %)	7(23,3 %)	$p \leq 0,632$
17 лет	34(34 %)	6(20 %)	$p \leq 0,218$

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

Таким образом, было установлено, что наибольшая вариабельность уровня ФСГ характерна для пациентов с варикоцеле, и статистически значимые отклонения зафиксированы во всех возрастных категориях. Уровни ФСГ на верхней границе референтного интервала или превышающие его выявлены реже, характерны для подростков основной группы. Зафиксирована более частая встречаемость низких уровней ФСГ, также характерная для подростков с варикоцеле, но по мере взросления частота такого отклонения снижалась.

Уровень ЛГ ниже референтного интервала статистически значимо чаще выявлен в основной группе в возрасте 14 лет. Отклонения в уровнях ЛГ встречались в единичных случаях и только в основной группе. К окончанию пубертатного периода не зафиксировано случаев превышения или снижения уровня ЛГ значений референтных интервалов.

При сопоставлении частоты отклонений от референтного интервала уровня тестостерона между группами выявлено, что уровень тестостерона выше референтного интервала статистически значимо чаще диагностировался у подростков без варикоцеле в 15 и 17 лет, при этом статистически значимо чаще уровень тестостерона ниже референтного интервала зафиксирован у пациентов с варикоцеле в возрасте 14 и 17 лет. Показатели уровня тестостерона, превышающие значения референтного интервала чаще встречались в более старшей категории обследуемых. Низкие уровни тестостерона чаще зафиксированы в возрасте 14-15 лет и их количество уменьшалось с возрастом.

Статистически значимо чаще повышенный уровень эстрадиола диагностирован у подростков группы сравнения в возрасте 15 лет. В целом динамика частоты встречаемости повышения уровня эстрадиола отражает аналогичные показатели тестостерона.

Далее была выполнена оценка уровня гормонов в динамике в зависимости от степени варикоцеле. Данные представлены в *таблице 19*.

Таблица 19 - Показатели уровня гормонов у пациентов основной группы и группы сравнения за период 14-17 лет в зависимости от степени варикоцеле

Возраст	Основная группа, 1 подгруппа, n = 49	Основная группа, 2 подгруппа, n = 51	Группа сравнения, n = 30	p
ФСГ (1,60 – 8,70 МЕ/л)				
14 лет	4,13 ± 1,98	3,46 ± 1,98	3,70 ± 2,09	p ¹ ≤ 0,093; p ² ≤ 0,365; p ³ ≤ 0,612
15 лет	4,27 ± 2,10	2,40 ± 1,38	3,057 ± 2,14	p ¹ ≤ 0,102; p ² ≤ 0,936; p ³ ≤ 0,190
16 лет	4,42 ± 2,40	3,67 ± 2,43	3,89 ± 2,40	p ¹ ≤ 0,122; p ² ≤ 0,343; p ³ ≤ 0,693
17 лет	4,45 ± 2,64	3,64 ± 2,40	4,48 ± 2,47	p¹ ≤ 0,011; p ² ≤ 0,959; p ³ ≤ 0,140
ЛГ (0,7 – 7,8 МЕ/л)				
14 лет	2,84 ± 1,81	2,50 ± 1,40	3,14 ± 1,35	p ¹ ≤ 0,302; p ² ≤ 0,408; p ³ ≤ 0,049
15 лет	2,97 ± 1,81	2,52 ± 1,35	3,79 ± 2,00	p ¹ ≤ 0,165; p ² ≤ 0,068; p³ ≤ 0,002
16 лет	3,07 ± 1,87	2,65 ± 1,34	3,53 ± 1,19	p ¹ ≤ 0,206; p ² ≤ 0,190; p³ ≤ 0,003
17 лет	3,04 ± 1,86	2,64 ± 1,33	4,06 ± 1,92	p ¹ ≤ 0,228; p² ≤ 0,023; p³ ≤ 0,006
Тестостерон (6,0 – 26,0 нмоль /л)				
14 лет	10,89 ± 4,71	11,06 ± 5,12	16,46 ± 7,55	p ¹ ≤ 0,863; p² ≤ 0,005; p³ ≤ 0,005
15 лет	14,05 ± 5,96	13,89 ± 5,60	22,38 ± 10,41	p ¹ ≤ 0,890; p² ≤ 0,001; p³ ≤ 0,001
16 лет	16,50 ± 6,29	17,00 ± 6,73	20,56 ± 5,34	p ¹ ≤ 0,701; p² ≤ 0,003; p³ ≤ 0,010
17 лет	19,72 ± 8,83	19,64 ± 7,25	23,25 ± 8,46	p ¹ ≤ 0,960; p ² ≤ 0,080; p ³ ≤ 0,053

Продолжение таблицы 19

	Эстрадиол (0,00 – 146,10 пмоль/л)			
14 лет	147,38 ± 67,91	151,48 ± 65,39	134,88 ± 56,68	$p^1 \leq 0,759$; $p^2 \leq 0,380$; $p^3 \leq 0,233$
15 лет	159,37 ± 73,20	164,73 ± 64,69	190,89 ± 56,62	$p^1 \leq 0,699$; $p^2 \leq 0,035$; $p^3 \leq 0,060$
16 лет	162,58 ± 65,75	173,64 ± 67,63	163,92 ± 50,64	$p^1 \leq 0,408$; $p^2 \leq 0,919$; $p^3 \leq 0,465$
17 лет	172,79 ± 70,08	175,79 ± 71,20	165,08 ± 42,96	$p^1 \leq 0,832$; $p^2 \leq 0,546$; $p^3 \leq 0,401$

Примечание: p^1 - статистически значимые различия показателей между 1 и 2 подгруппами ($p \leq 0,05$); p^2 - статистически значимые различия показателей между 1 подгруппой и группой сравнения ($p \leq 0,025$); p^3 - статистически значимые различия показателей между 2 подгруппой и группой сравнения ($p \leq 0,025$).

Статистически значимых различий в уровнях гормонов между подгруппами с II и III степенью варикоцеле основной группы не установлено, за исключением уровня ФСГ - выявлено статистически более высокое его значение у подростков с II степенью варикоцеле по сравнению с подростками с III степенью варикоцеле в 17 лет. В группе сравнения статистически выше уровень тестостерона, чем при II и III степени варикоцеле и эта тенденция прослеживалась в 14,15 и 16 лет в обеих группах. Зафиксирован статистически более высокий уровень ЛГ у пациентов группы сравнения, чем при варикоцеле III степени во всех возрастных категориях (за исключением 14 лет), а для пациентов с II степенью варикоцеле такая тенденция установлена только в возрасте 17 лет. Уровень эстрадиола статистически значимо не отличался ни в одной из обследуемых групп.

Поскольку была проведена оценка частоты встречаемости отклонений показателей уровня гормонов при варикоцеле и у подростков без варикоцеле, для оценки влияния степени варикоцеле на развитие эндокринных нарушений был проведен аналогичный анализ при II и III степени варикоцеле. Результаты представлены в таблице 20.

Таблица 20 - Частота встречаемости отклонения показателей уровня гормонов от референтного интервала в зависимости от степени варикоцеле

Возраст	Основная группа, 1 подгруппа, n = 49	Основная группа, 2 подгруппа, n = 51	p
ФСГ (1,60 – 8,70 МЕ/л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	2(4 %)	1(2 %)	p ≤ 0,613
15 лет	1(2 %)	4(7,8 %)	p ≤ 0,363
16 лет	4(8,2 %)	4(7,8 %)	p ≤ 1,000
17 лет	5(10,2 %)	2(4 %)	p ≤ 0,264
ФСГ (1,60 – 8,70 МЕ/л), нижняя граница или ниже референтного интервала			
14 лет	4(8,2 %)	8(15,7 %)	p ≤ 0,358
15 лет	4(8,2 %)	9(17,6 %)	p ≤ 0,235
16 лет	4(8,2 %)	13(25,5 %)	p ≤ 0,031
17 лет	3(6,1 %)	10(19,6 %)	p ≤ 0,071
ЛГ (0,70 – 7,80 МЕ/л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	2(4 %)	0	p ≤ 0,237
15 лет	2(4 %)	0	p ≤ 0,237
16 лет	0	1(2 %)	p ≤ 1,000
17 лет	0	0	-
ЛГ (0,70 – 7,80 МЕ/л), нижняя граница или ниже референтного интервала			
14 лет	3(6,1 %)	1(2 %)	p ≤ 0,300
15 лет	1(2 %)	1(2 %)	p ≤ 1,000
16 лет	0	0	-
17 лет	0	0	-
Тестостерон (6,0 – 26,0 нмоль /л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	0	0	-
15 лет	1(2 %)	0	p ≤ 0,490
16 лет	4(8,2 %)	2(4 %)	p ≤ 0,431
17 лет	6(12,2 %)	5(9,8 %)	p ≤ 0,944
Тестостерон (6,0 – 26,0 нмоль /л), нижняя граница или ниже референтного интервала			
14 лет	13(26,5 %)	15(29,4 %)	p ≤ 0,747
15 лет	4(8,2 %)	8(15,7 %)	p ≤ 0,358
16 лет	3(6,1 %)	7(13,7 %)	p ≤ 0,318
17 лет	2(4 %)	5(9,8 %)	p ≤ 0,361
Эстрадиол (0,00 – 146,0 пмоль/л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	7(14,3 %)	9(17,6 %)	p ≤ 0,853
15 лет	11(22,4 %)	14(27,4 %)	p ≤ 0,563
16 лет	11(22,4 %)	19(37,2 %)	p ≤ 0,104
17 лет	14(28,6 %)	20(39,2 %)	p ≤ 0,262

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

Статистически значимые различия установлены только для ФСГ: более часто выявлено снижение уровня этого гормона у пациентов с III степенью варикоцеле в возрасте 16 лет. Для остальных гормонов не установлено статистически значимых различий в частоте встречаемости случаев повышения или понижения их уровней в зависимости от степени варикоцеле.

Поскольку у части пациентов обследование начато до оперативной коррекции варикоцеле, а у других пациентов варикоцелэктомия была в анамнезе за 1-2 года до начала исследования, была предпринята попытка оценить влияние оперативной коррекции варикоцеле на уровень гормонов в динамике в зависимости от давности варикоцелэктомии. Данные представлены в таблице 21.

Таблица 21 - Показатели уровня гормонов у пациентов основной группы и группы сравнения в период 14-17 лет в зависимости от давности варикоцелэктомии

Показатель	Основная группа, 3 подгруппа, n = 46	Основная группа, 4 подгруппа, n = 54	Группа сравнения, n = 30	p
ФСГ (1,60 – 8,70 МЕ/л)				
14 лет	3,45 ± 2,09	4,07 ± 1,88	3,70 ± 2,09	p ¹ ≤ 0,128; p ² ≤ 0,611; p ³ ≤ 0,424
15 лет	3,55 ± 2,12	4,23 ± 2,13	4,23 ± 2,21	p ¹ ≤ 0,112; p ² ≤ 0,183; p ³ ≤ 1,000
16 лет	3,63 ± 2,26	4,38 ± 2,54	3,89 ± 2,240	p ¹ ≤ 0,122; p ² ≤ 0,637; p ³ ≤ 0,386
17 лет	3,59 ± 2,17	4,42 ± 2,78	4,48 ± 2,47	p ¹ ≤ 0,098; p ² ≤ 0,115; p ³ ≤ 0,919
ЛГ (0,70 – 7,80 МЕ/л)				
14 лет	2,24 ± 1,32	3,03 ± 1,76	3,14 ± 1,35	p ¹ ≤ 0,011; p ² ≤ 0,005; p ³ ≤ 0,751
15 лет	2,24 ± 1,26	3,17 ± 1,74	3,79 ± 2,00	p ¹ ≤ 0,003; p ² ≤ 0,001; p ³ ≤ 0,155
16 лет	2,44 ± 1,35	3,21 ± 1,77	3,53 ± 1,19	p ¹ ≤ 0,015; p ² ≤ 0,001; p ³ ≤ 0,328
17 лет	2,35 ± 1,30	3,25 ± 1,74	4,06 ± 1,92	p ¹ ≤ 0,004; p ² ≤ 0,001; p ³ ≤ 0,060

Тестостерон (6,0 – 26,0 нмоль /л)				
14 лет	11,13 ± 5,68	10,85 ± 4,17	16,46 ± 7,55	$p^1 \leq 0,709$; $p^2 \leq 0,002$; $p^3 \leq 0,001$
15 лет	14,26 ± 6,63	13,71 ± 4,93	22,38 ± 10,41	$p^1 \leq 0,644$; $p^2 \leq 0,001$; $p^3 \leq 0,001$
16 лет	17,47 ± 7,35	16,17 ± 5,66	20,5 ± 5,34	$p^1 \leq 0,336$; $p^2 \leq 0,033$; $p^3 \leq 0,001$
17 лет	19,45 ± 8,26	19,94 ± 7,81	23,25 ± 8,46	$p^1 \leq 0,336$; $p^2 \leq 0,049$; $p^3 \leq 0,089$
Эстрадиол (0,0-146, 10 пмоль/л)				
14 лет	143,52 ± 55,02	154,54 ± 74,77	134,88 ± 56,68	$p^1 \leq 0,399$; $p^2 \leq 0,513$; $p^3 \leq 0,179$
15 лет	155,97 ± 53,49	167,33 ± 79,52	190,89 ± 56,62	$p^1 \leq 0,398$; $p^2 \leq 0,009$; $p^3 \leq 0,120$
16 лет	162,57 ± 59,02	173,03 ± 7,02	163,92 ± 50,64	$p^1 \leq 0,428$; $p^2 \leq 0,915$; $p^3 \leq 0,503$
17 лет	164,99 ± 61,40	182,27 ± 76,77	165,08 ± 42,96	$p^1 \leq 0,101$; $p^2 \leq 0,994$; $p^3 \leq 0,191$

Примечание: p^1 - статистически значимые различия показателей между 3 и 4 подгруппами ($p \leq 0,05$); p^2 - статистически значимые различия показателей между 3 подгруппой группой сравнения ($p \leq 0,025$); p^3 - статистически значимые различия показателей между 4 подгруппой и группой сравнения ($p \leq 0,025$).

При оценке полученных данных установлен статистически значимо более высокий уровень ЛГ у пациентов с варикоцелэктомией в анамнезе по сравнению с пациентами, у которых операция была выполнена после первого определения уровня гормонов во всех возрастных категориях.

Сравнение показателей уровня гормонов в обеих подгруппах с показателями группы сравнения позволило выявить следующее. У подростков с варикоцелэктомией, выполненной в более поздние сроки, установлен статистически значимо более низкий уровень ЛГ во все возрастные периоды и тестостерона в 14 и 15 лет относительно группы сравнения, а также более низкий уровень эстрадиола в возрасте 15 лет. В группе подростков с варикоцелэктомией в

анамнезе статистически значимые различия зафиксированы только в более низком, относительно группы сравнения, уровне тестостерона в возрасте 14,15 и 16 лет.

Оценка частоты встречаемости отклонений уровня гормонов от референтного интервала выявила следующие результаты, представленные в таблице 22.

Таблица 22 - Частота встречаемости отклонения показателей уровня гормонов от референтного интервала в зависимости от давности варикоцелектомии

Возраст	Основная группа, 3 подгруппа, n = 46	Основная группа, 4 подгруппа, n = 54	p
ФСГ (1,60 – 8,70 МЕ/л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	2(4,3 %)	1(1,8 %)	$p \leq 0,593$
15 лет	3(6,5 %)	2(3,7 %)	$p \leq 0,659$
16 лет	3(6,5 %)	5(9,2 %)	$p \leq 0,723$
17 лет	1(2,2 %)	6(11,1 %)	$p \leq 0,120$
ФСГ (1,60 – 8,70 МЕ/л), нижняя граница или ниже референтного интервала			
14 лет	9(19,5 %)	3(5,5 %)	$p \leq 0,060$
15 лет	10(21,7 %)	3(5,5 %)	$p \leq 0,034$
16 лет	11(23,9 %)	6(11,1 %)	$p \leq 0,152$
17 лет	8(17,3 %)	5(9,2 %)	$p \leq 0,249$
ЛГ (0,70 – 7,80 МЕ/л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	0	2(3,7 %)	$p \leq 0,498$
15 лет	0	2(3,7 %)	$p \leq 0,498$
16 лет	0	1(1,8 %)	$p \leq 1,000$
17 лет	0	0	-
ЛГ (0,70 – 7,80 МЕ/л), нижняя граница или ниже референтного интервала			
14 лет	4(8,7 %)	0	$p \leq 0,042$
15 лет	2(4,3 %)	0	$p \leq 0,210$
16 лет	0	0	-
17 лет	0	0	-

Тестостерон (6,0 – 26,0 нмоль /л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	0	0	-
15 лет	1(2,2%)	0	$p \leq 0,460$
16 лет	4(8,7 %)	2(3,7 %)	$p \leq 0,410$
17 лет	5(10,8 %)	6(11,1 %)	$p \leq 0,961$
Тестостерон (6,0 – 26,0 нмоль /л), нижняя граница или ниже референтного интервала			
14 лет	14(30,4 %)	14(25,9 %)	$p \leq 0,619$
15 лет	9(19,5 %)	3(5,5 %)	$p \leq 0,036$
16 лет	6(13 %)	4(7,4 %)	$p \leq 0,506$
17 лет	4(8,7 %)	3(5,5 %)	$p \leq 0,700$
Эстрадиол (0,0 – 146,10 пмоль/л), верхняя граница или превышение референтного интервала			
14 лет	7(15,2 %)	9(16,6 %)	$p \leq 0,848$
15 лет	11(23,9 %)	14(25,9 %)	$p \leq 0,817$
16 лет	14(30,4 %)	16(29,6 %)	$p \leq 0,930$
17 лет	15(32,6 %)	19(35,1 %)	$p \leq 0,796$

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

При оценке полученных данных установлено, что относительно чаще различные варианты отклонения уровней гормонов выявлены в основной группе в подгруппе с более поздней варикоцелэктомией.

При сравнении частоты встречаемости отклонений между обеими подгруппами зафиксировано, что статистически значимо чаще выявлены значения ФСГ в возрасте 14,15, 16 лет, ЛГ – в возрасте 14 лет и тестостерона – в возрасте 15 лет ниже референтного интервала у подростков с более поздней оперативной коррекцией варикоцеле.

3.7 – Показатели метаболического статуса у подростков с варикоцеле

Результаты оценки показателей углеводного и липидного обменов представлены в таблице 23.

Таблица 23 - Показатели углеводного и липидного обмена у подростков основной группы и группы сравнения

Возраст	Основная группа, n=100	Группа сравнения, n=30	p
Глюкоза (3,60 - 5,90 ммоль/л)			
14 лет	4,69 ± 0,71	4,98 ± 0,29	p ≤ 0,001
15 лет	4,68 ± 0,75	4,99 ± 0,40	p ≤ 0,002
16 лет	4,75 ± 0,69	4,77 ± 0,29	p ≤ 0,816
17 лет	4,85 ± 0,63	4,93 ± 0,39	p ≤ 0,387
Холестерин (2,80 – 5,20 ммоль /л)			
14 лет	3,64 ± 0,56	3,94 ± 0,48	p ≤ 0,006
15 лет	3,68 ± 0,51	3,73 ± 0,55	p ≤ 0,655
16 лет	3,66 ± 0,53	3,65 ± 0,47	p ≤ 0,923
17 лет	3,66 ± 0,58	3,97 ± 0,67	p ≤ 0,023
Липопротеины высокой плотности (ЛПВП) (0,90 -2,30ммоль/л)			
14 лет	1,18 ± 0,32	1,16 ± 0,15	p ≤ 0,638
15 лет	1,14 ± 0,20	1,16 ± 0,18	p ≤ 0,580
16 лет	1,14 ± 0,19	1,17 ± 0,21	p ≤ 0,504
17 лет	1,14 ± 0,20	1,18 ± 0,19	p ≤ 0,269
Липопротеины низкой плотности (ЛПНП) (1,30 – 3,37 ммоль/л)			
14 лет	2,16 ± 0,42	2,37 ± 0,37	p ≤ 0,011
15 лет	2,18 ± 0,42	2,18 ± 0,46	p ≤ 1,001
16 лет	2,18 ± 0,42	2,14 ± 0,42	p ≤ 0,655
17 лет	2,14 ± 0,44	2,30 ± 0,51	p ≤ 0,107
Триглицериды (0,40 – 2,20 ммоль/л)			
14 лет	0,87 ± 0,42	0,80 ± 0,38	p ≤ 0,387
15 лет	0,84 ± 0,36	0,89 ± 0,40	p ≤ 0,536
16 лет	0,84 ± 0,34	0,77 ± 0,23	p ≤ 0,164
17 лет	0,85 ± 0,36	0,87 ± 0,32	p ≤ 0,782

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

Значения всех исследуемых показателей в обеих группах находились в пределах референтного интервала за весь период наблюдения.

Статистически значимые различия выявлены у пациентов сравниваемых групп в возрасте 14 лет в уровне глюкозы, холестерина, ЛПНП, в возрасте 15 лет - только в уровне глюкозы, а в 17 лет – в уровне холестерина. Было установлено, что средний показатель уровня глюкозы статистически значимо отличался у пациентов группы сравнения, также, как и уровень ЛПНП. Уровень холестерина статистически значимо выше у подростков группы сравнения в 14 лет и у подростков с варикоцеле в 17 лет. Внутри каждой группы между возрастными статистически значимой разницы в уровнях исследуемых показателей не диагностировано.

3.8 – Вклад генетических факторов в нарушение репродуктивной функции при варикоцеле у подростков

При оценке кариотипа у подростков с варикоцеле в 1 случае (1 %) выявлено укорочение длинного плеча Y-хромосомы – кариотип 46, XYq-.

У подростков группы сравнения изменений в кариотипе не обнаружено, все обследуемые из этой группы имеют нормальный мужской кариотип 46, XY.

Исследование локуса AZF позволило диагностировать у трех человек из основной группы (3 %) делецию sY1291, а у подростков без варикоцеле делеций в локусе AZF не выявлено.

В группе подростков с варикоцеле у одного человека (1 %) диагностирована делеция в гене CFTR, Nmdel F508. У подростков без варикоцеле мутаций в гене CFTR не зарегистрировано.

3.9 - Характеристика показателей эякулята у подростков при варикоцеле

3.9.1 – Показатели спермограммы

Результаты сопоставления показателей спермограммы у подростков с варикоцеле и без варикоцеле представлены в *таблице 24*.

Таблица 24 – Показатели спермограммы у подростков с варикоцеле и подростков группы сравнения

Показатель	Основная группа, n=100	Группа сравнения, n=30	p
Объем эякулята, мл (1,5 и более)	2,39 ± 1,25	2,24 ± 1,05	p ≤ 0,905
Концентрация сперматозоидов, млн/мл (15,00 и более)	73,66 ± 50,01	83,46 ± 32,92	p ≤ 0,212
Общее количество сперматозоидов, млн	182,20 ± 166,61	182,50 ± 107,38	p ≤ 0,990
Кислотность, рН (7,2 и более)	8,7 ± 0,7	8,1 ± 0	p ≤ 0,393
Вязкость	0,84 ± 1,12	0,75 ± 1,05	p ≤ 0,682
Подвижность			
Категория «А», быстрое поступательное, %	17,12 ± 10,98	21,8 ± 13,69	p ≤ 0,089
Категория «В», медленное поступательное, %	29,10 ± 12,21	26,43 ± 10,14	p ≤ 0,230
Категория «А+В», прогрессивная подвижность (32,0-100,0)	46,02 ± 19,73	48,23 ± 15,89	p ≤ 0,529
Категория «С», непоступательное, %	17,62 ± 10,58	21,27 ± 5,71	p ≤ 0,015
Категория «А+В+С», общая подвижность (40,0-100,0)	63,74 ± 22,74	69,50 ± 16,52	p ≤ 0,129
Категория «D», неподвижные, %	35,16 ± 22,16	30,50 ± 16,52	p ≤ 0,216
Морфология			
Клетки сперматогенеза, %	0,47 ± 0,82	0,67 ± 0,80	p ≤ 0,241
Нормальные сперматозоиды, %	14,20 ± 7,97	14,67 ± 6,44	p ≤ 0,691
Юные сперматозоиды, %	0	0	0
Старые сперматозоиды, %	0	0	0
Дефект головки, %	57,83 ± 12,10	52,20 ± 8,49	p ≤ 0,004
Дефект шейки, %	17,41 ± 6,14	20,10 ± 5,76	p ≤ 0,028
Дефект жгутика, %	9,47 ± 4,67	12,4 ± 6,04	p ≤ 0,015
Бактериоспермия, %	15(15 %)	6(20 %)	p ≤ 0,539

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

Из полученных результатов следует, что большая часть показателей спермограммы у пациентов обеих групп находилась в пределах референтного интервала. У подростков с варикоцеле выше показатели объема эякулята, кислотности и вязкости, а подростков без варикоцеле выше показатель концентрации сперматозоидов, но статистически значимых различий между показателями не установлено.

При оценке категорий подвижности сперматозоидов было выявлено, что у подростков без варикоцеле выше показатель быстрого поступательного движения, в то время как у пациентов с варикоцеле выше показатель медленного поступательного движения сперматозоидов, но статистически значимого различия не зафиксировано. Статистически значимо более высокий показатель непоступательного движения сперматозоидов установлен у подростков без варикоцеле. В целом, показатель общей подвижности сперматозоидов (категория «А+В+С») находился в пределах референтного интервала у подростков обеих групп и статистически значимо не различался, также, как и показатель неподвижных сперматозоидов.

При оценке морфологии сперматозоидов статистически значимо чаще у подростков с варикоцеле диагностирован дефект головки, а у подростков без варикоцеле – дефект шейки и жгутика, но они не превышали допустимых значений. Количество случаев выявления бактериоспермии при выполнении спермограммы у подростков обеих групп статистически значимо не различался.

Общие заключения исследования, которые имеют различные варианты, представлены в *таблице 25*. Следует учесть, что заключения могут носить комбинированный характер. Статистически значимо чаще у подростков с варикоцеле диагностирована астенозооспермия, что сопоставимо с результатами исследования подвижности сперматозоидов, где были установлены более низкий показатель быстрого поступательного движения и общей подвижности сперматозоидов у пациентов с варикоцеле. Остальные заключения примерно с одинаковой частотой встречались у подростков обеих групп. Следует отметить, что ни в одной группе не диагностировано снижение концентрации и общего

количества сперматозоидов (отсутствовало заключение олигозооспермия, азооспермия), лишь в 1 (1 %) случае при варикоцеле зафиксирована тератозооспермия.

Таблица 25 – Варианты заключений спермограмм у подростков с варикоцеле и без варикоцеле и частота их встречаемости в исследуемых группах

Заключение	Основная группа, n=100	Группа сравнения, n=30	p
Нормозооспермия	52 (52 %)	19 (63,3 %)	$p \leq 0,266$
Астенозооспермия	24 (24 %)	2 (6,7 %)	$p \leq 0,040$
Олигоспермия	24 (24 %)	9 (30 %)	$p \leq 0,672$
Тератозооспермия	1 (1 %)	0 (0 %)	$p \leq 1,000$
Вискозипатия	13 (13 %)	3 (10 %)	$p \leq 1,000$

Примечание: p - статистически значимые различия ($p \leq 0,05$), вследствие выявления нескольких патологических признаков у одного и того же подростка, общее количество наблюдений не соответствует 100%.

Поскольку при III степени варикоцеле клинические проявления этого патологического состояния более выражены, следовательно, и воздействие на тестикулярную ткань ишемии, гипоксии и гипертермии более выражены. Исходя из этого предположения, было выполнено сравнение спермограмм у подростков II и III степени варикоцеле и сопоставление с результатами подростков группы сравнения (таблица 26).

Таблица 26 – Показатели спермограммы у подростков II и III степени варикоцеле, подростков группы сравнения

Показатель	Основная группа, 1 подгруппа, n=49	Основная группа, 2 подгруппа, n=51	Группа сравнения, n=30	p
Объем эякулята, мл (1,5 и более)	$2,65 \pm 1,17$	$2,14 \pm 1,28$	$2,24 \pm 1,05$	$p^1 \leq 0,042$; $p^2 \leq 0,119$; $p^3 \leq 0,934$
Концентрация сперматозоидов, млн/мл (15,00 и более)	$84,96 \pm 55,68$	$62,80 \pm 41,60$	$83,46 \pm 32,92$	$p^1 \leq 0,025$; $p^2 \leq 0,880$; $p^3 \leq 0,015$

Продолжение таблицы 26

Общее количество сперматозоидов, млн	221,07 ± 171,89	144,85 ± 153,93	182,50 ± 107,38	p¹ ≤ 0,021; p ² ≤ 0,223; p ³ ≤ 0,200
Кислотность, рН (7,2 и более)	8,0 ± 0,02	7,99 ± 0,17	8,1 ± 0	p ¹ ≤ 0,782; p ² ≤ 0,222; p ³ ≤ 0,201
Вязкость	1,04 ± 1,39	0,65 ± 0,76	0,75 ± 1,05	p ¹ ≤ 0,090; p ² ≤ 0,296; p ³ ≤ 0,650
Подвижность				
Категория «А», быстрое поступательное, %	18,73 ± 9,88	15,57 ± 11,83	21,8 ± 13,69	p ¹ ≤ 0,150; p ² ≤ 0,288; p ³ ≤ 0,041
Категория «В», медленное поступательное, %	30,73 ± 10,79	27,53 ± 13,34	26,43 ± 10,14	p ¹ ≤ 0,765; p ² ≤ 0,078; p ³ ≤ 0,677
Категория «А+В», прогрессивная подвижность (32,0-100,0)	49,06 ± 18,22	43,10 ± 20,84	48,23 ± 15,89	p ¹ ≤ 0,130; p ² ≤ 0,834; p ³ ≤ 0,216
Категория «С», непоступательное, %	16,69 ± 10,33	18,57 ± 10,85	21,27 ± 5,71	p ¹ ≤ 0,377; p² ≤ 0,013; p ³ ≤ 0,216
Категория «А+В+С», общая подвижность (40,0-100,0)	65,96 ± 21,42	61,61 ± 23,95	69,50 ± 16,52	p ¹ ≤ 0,340; p ² ≤ 0,341; p ³ ≤ 0,084
Категория «D», неподвижные, %	31,80 ± 19,81	38,39 ± 23,95	30,50 ± 16,52	p ¹ ≤ 0,136; p ² ≤ 0,754; p ³ ≤ 0,081
Морфология				
Клетки сперматогенеза, %	0,33 ± 0,59	0,61 ± 0,98	0,67 ± 0,80	p ¹ ≤ 0,085; p ² ≤ 0,049; p ³ ≤ 0,770
Нормальные сперматозоиды, %	14,27 ± 7,49	14,14 ± 8,49	14,67 ± 6,44	p ¹ ≤ 0,935; p ² ≤ 0,802; p ³ ≤ 0,752
Юные сперматозоиды, %	0	0	0	-
Старые сперматозоиды, %	0	0	0	-
Дефект головки, %	58,04 ± 14,20	57,63 ± 9,82	52,20 ± 8,49	p ¹ ≤ 0,867; p² ≤ 0,025; p³ ≤ 0,010
Дефект шейки, %	16,45 ± 5,67	18,33 ± 6,49	20,10 ± 5,76	p ¹ ≤ 0,126; p² ≤ 0,007; p ³ ≤ 0,206
Дефект жгутика, %	8,84 ± 5,54	10,08 ± 3,62	12,4 ± 6,04	p ¹ ≤ 0,190; p² ≤ 0,010; p ³ ≤ 0,051

Примечание: p¹ - статистически значимые различия показателей между 1 и 2 подгруппами (p ≤ 0,05); p² - статистически значимые различия показателей между 1 подгруппой и группой сравнения (p ≤ 0,025); p³ - статистически значимые различия показателей между 2 подгруппой и группой сравнения (p ≤ 0,025).

При сопоставлении результатов спермограммы у подростков с II и III степенью варикоцеле у пациентов с III степенью варикоцеле установлены статистически значимо более низкие показатели концентрации и общего количества сперматозоидов, чем у подростков с II степенью варикоцеле, но значения показателей укладывались в диапазон референтного интервала. Кроме того, при III степени варикоцеле отмечены более низкие показатели прогрессивной и общей подвижности сперматозоидов и более высокие показатели непоступательного движения сперматозоидов и количества неподвижных сперматозоидов по сравнению с показателями пациентов с II степенью варикоцеле, хотя эти различия в данных показателях статистически не значимы. Показатели морфологии сперматозоидов оказались сходными для обеих групп.

При II степени варикоцеле различия установлены в более низком количестве сперматозоидов категории «С» (статистически значимое) и клеток сперматогенеза, а при III степени варикоцеле – более низкая концентрация сперматозоидов (статистически значимое) и уменьшенное количество сперматозоидов категории «А» по сравнению с результатами подростков без варикоцеле. Статистически значимо у подростков без варикоцеле реже выявлялся дефект головки сперматозоидов, но чаще – дефект шейки и жгутика по сравнению с варикоцеле II и III степени. У подростков с варикоцеле обеих степеней были зафиксированы более высокие показатели общей подвижности сперматозоидов и более низкое количество неподвижных сперматозоидов по сравнению с результатами подростков без варикоцеле, но статистически значимой разницы не установлено. Было установлено, что концентрация сперматозоидов статистически значимо ниже у пациентов с III степенью варикоцеле по сравнению как с пациентами с II степенью варикоцеле, так и с подростками без варикоцеле.

Варианты заключений спермограммы и частота их встречаемости в группах у подростков с II и III степенью варикоцеле и подростков без варикоцеле представлены в *таблице 27*.

Таблица 27 –Заключения спермограмм у подростков с варикоцеле II и III степени и без варикоцеле и частота их встречаемости в исследуемых группах

Варианты заключений	Основная группа, 1 подгруппа, n=49	Основная группа, 2 подгруппа, n=51	Группа сравнения, n=30	p
Нормозооспермия	32(65,30%)	20(39,21%)	19 (63,3%)	$p^1 \leq 0,008$; $p^2 \leq 0,857$; $p^3 \leq 0,033$
Астенозооспермия	10(20,40%)	14(27,45%)	2(6,7%)	$p^1 \leq 0,408$; $p^2 \leq 0,118$; $p^3 \leq 0,040$
Олигоспермия	7(14,28%)	17(33,33%)	9(30%)	$p^1 \leq 0,046$; $p^2 \leq 0,110$; $p^3 \leq 0,949$
Тератозооспермия	0(0%)	1(2%)	0(0%)	$p^1 \leq 1,000$; $p^2 \leq 1,000$ $p^3 \leq 1,000$
Вискозипатия	8(16,32%)	5(9,8%)	3 (10%)	$p^1 \leq 0,501$; $p^2 \leq 0,519$; $p^3 \leq 0,976$

Примечание: p^1 - статистически значимые различия показателей между 1 и 2 подгруппами ($p \leq 0,05$); p^2 - статистически значимые различия показателей между 1 подгруппой и группой сравнения ($p \leq 0,025$); p^3 - статистически значимые различия показателей между 2 подгруппой и группой сравнения ($p \leq 0,025$).

У подростков с варикоцеле III степени статистически значимо реже диагностирована нормозооспермия и чаще олигоспермия по сравнению с подростками с варикоцеле II степени. При сравнении вариантов заключений у подростков без варикоцеле и подростков с варикоцеле III степени у последних чаще диагностирована астенозооспермия и реже нормозооспермия, но статистически не значимо. Между подростками с II степенью варикоцеле и подростками без варикоцеле статистически значимых различий в частоте вариантов заключений

спермограмм не установлено. Единственный случай тератозооспермии диагностирован у подростка с варикоцеле III степени.

Предполагается, что варикоцелеэктомия способствует улучшению параметров эякулята. Несмотря на давность выполненной оперативной коррекции относительно момента исследования эякулята, была предпринята попытка выявить разницу в показателях эякулята в зависимости от давности варикоцелэктомии. Результаты представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Показатели спермограммы у подростков в зависимости от давности варикоцелеэктомии и у подростков группы сравнения

Показатель	Основная группа, 3 подгруппа, n = 46	Основная группа, 4 подгруппа, n = 54	Группа сравнения, n=30	p
Объем эякулята, мл (1,5 и более)	2,16 ± 1,23	2,59 ± 1,24	2,24 ± 1,05	p ¹ ≤ 0,085; p ² ≤ 0,760; p ³ ≤ 0,173
Концентрация сперматозоидов, млн/мл (15,00 и более)	67,57 ± 36,76	78,85 ± 58,86	83,46 ± 32,92	p ¹ ≤ 0,246; p ² ≤ 0,050; p ³ ≤ 0,646
Общее количество сперматозоидов, млн	153,24 ± 129,61	206,87 ± 190,36	182,50 ± 107,38	p ¹ ≤ 0,098; p ² ≤ 0,288; p ³ ≤ 0,455
Кислотность, рН (7,2 и более)	8,01 ± 0,15	7,98 ± 0,21	8,1 ± 0,12	p ¹ ≤ 0,407; p ² ≤ 0,929; p ³ ≤ 0,210
Вязкость	0,81 ± 1,16	0,87 ± 1,11	0,75 ± 1,05	p ¹ ≤ 0,791; p ² ≤ 0,814; p ³ ≤ 0,621
Подвижность				
Категория «А», быстрое поступательное, %	18,74 ± 10,92	15,74 ± 10,94	21,8 ± 13,69	p ¹ ≤ 0,174; p ² ≤ 0,175; p ³ ≤ 0,040
Категория «В», медленное поступательное, %	29,63 ± 11,34	28,65 ± 12,99	26,43 ± 10,14	p ¹ ≤ 0,688; p ² ≤ 0,203; p ³ ≤ 0,388
Категория «А+В», прогрессивная подвижность (32,0-100,0)	48,15 ± 18,08	44,20 ± 21,03	48,23 ± 15,89	p ¹ ≤ 0,764; p ² ≤ 0,983; p ³ ≤ 0,760
Категория «С», непоступательное, %	19,72 ± 10,62	15,83 ± 10,31	21,27 ± 5,71	p ¹ ≤ 0,067; p ² ≤ 0,413; p ³ ≤ 0,002

Продолжение таблицы 28

Категория «А+В+С», общая подвижность (40,0-100,0)	67,87 ± 18,67	60,22 ± 25,35	69,50 ± 16,52	$p^1 \leq 0,086$; $p^2 \leq 0,691$; $p^3 \leq 0,046$
Категория «D», неподвижные, %	31,91 ± 18,78	37,93 ± 24,50	30,50 ± 16,52	$p^1 \leq 0,167$; $p^2 \leq 0,731$; $p^3 \leq 0,102$
Морфология				
Клетки сперматогенеза, %	0,39 ± 0,83	0,54 ± 0,82	0,67 ± 0,80	$p^1 \leq 0,359$; $p^2 \leq 0,360$; $p^3 \leq 0,486$
Нормальные сперматозоиды, %	14,72 ± 7,84	13,76 ± 8,13	14,67 ± 6,44	$p^1 \leq 0,551$; $p^2 \leq 0,976$; $p^3 \leq 0,575$
Юные сперматозоиды, %	0	0	0	0
Старые сперматозоиды, %	0	0	0	0
Дефект Головки, %	55,26 ± 9,14	60,02 ± 13,86	52,20 ± 8,49	$p^1 \leq 0,043$; $p^2 \leq 0,140$; $p^3 \leq 0,002$
Дефект Шейки, %	18,17 ± 5,15	16,76 ± 6,86	20,10 ± 5,76	$p^1 \leq 0,243$; $p^2 \leq 0,140$; $p^3 \leq 0,019$
Дефект Жгутика, %	11,67 ± 4,40	7,59 ± 4,07	12,4 ± 6,04	$p^1 \leq 0,001$; $p^2 \leq 0,569$; $p^3 \leq 0,002$

Примечание: p^1 - статистически значимые различия показателей между 3 и 4 подгруппами ($p \leq 0,05$); p^2 - статистически значимые различия показателей между 3 подгруппой и группой сравнения ($p \leq 0,025$); p^3 - статистически значимые различия показателей между 4 и группой сравнения ($p \leq 0,025$).

При оценке полученных результатов установлено, что статистически значимые различия между группами в зависимости от давности выполнения варикоцелэктомии выявлены только в показателях морфологии: у пациентов с более поздней оперативной коррекцией реже диагностированы дефекты головки и чаще дефекты жгутиков, но полученные значения не превышали допустимые интервалы.

У пациентов с варикоцелеэктомией в более поздние сроки относительно группы сравнения статистически значимых различий в исследуемых показателях не установлено.

У подростков с варикоцелэктомией в анамнезе статистически значимо ниже были показатели непоступательного движения, чаще выявлены дефекты головки и реже дефекты шейки и жгутиков по сравнению с группой подростков без варикоцеле.

Варианты заключений спермограмм и частота их встречаемости у подростков с варикоцеле в зависимости от давности варикоцелеэктомии и у подростков группы сравнения представлены в *таблице 29*.

Таблица 29 – Заключение спермограмм у подростков в зависимости от давности варикоцелэктомии и у подростков группы сравнения

Варианты заключения	Основная группа, 3 подгруппа, n = 46	Основная группа, 4 подгруппа, n = 54	Группа сравнения, n=30	p
Нормозооспермия	24(52,20%)	28(51,80%)	19 (63,3%)	$p^1 \leq 0,968$; $p^2 \leq 0,336$; $p^3 \leq 0,304$
Астенозооспермия	8 (17,40%)	16(29,60%)	2 (6,7%)	$p^1 \leq 0,147$; $p^2 \leq 0,298$; $p^3 \leq 0,014$
Олигоспермия	18(39,10%)	6(11,11%)	9 (30%)	$p^1 \leq 0,002$; $p^2 \leq 0,412$; $p^3 \leq 0,062$
Тератозооспермия	0(0%)	1(1,8%)	0 (0%)	$p^1 \leq 1,000$; $p^2 \leq 1,000$ $p^3 \leq 1,000$
Вискозипатия	6(13,0%)	7(12,9%)	3 (10%)	$p^1 \leq 0,988$; $p^2 < 0,686$; $p^3 \leq 0,685$

Примечание: p^1 - статистически значимые различия показателей между 3 и 4 подгруппами ($p \leq 0,05$); p^2 - статистически значимые различия показателей между 3 подгруппой и группой сравнения ($p \leq 0,025$); p^3 - статистически значимые различия показателей между 4 подгруппой и группой сравнения ($p \leq 0,025$).

При сопоставлении полученных результатов между группами в зависимости от давности выполнения варикоцелеэктомии статистически значимо чаще в группе с более поздней оперативной коррекцией диагностирована олигоспермия.

3.9.2 – Ультраструктурные изменения сперматозоидов

Показатели ультраструктурного анализа сперматозоидов подростков представлены в *таблице 30*. Следует учитывать, что возможна комбинация различных патологических изменений сперматозоидов у одного обследуемого.

Таблица 30 - Результаты электронно-микроскопического исследования сперматозоидов (ЭМИС) у подростков с варикоцеле и подростков группы сравнения

Показатель	Основная группа, n = 100	Группа сравнения, n = 30	p
Нормозооспермия	57 (57%)	19 (63,3%)	$p \leq 0,533$
Олигозооспермия	16 (16%)	4 (13,3%)	$p \leq 0,862$
Дисплазия сперматозоидов	12(12%)	2(6,6%)	$p \leq 0,364$
Аномалии головок сперматозоидов (менее 30% головок сперматозоидов имеют нормальную форму и типичное строение структур головки)	19(19%)	3 (10%)	$p \leq 0,404$
Признаки повреждения ДНК сперматозоидов (наличие неконденсированного, вакуолизированного хроматина)	14 (14%)	2 (6,7%)	$p \leq 0,359$
Избыточность акросомы, ее некомпактное содержание	26 (26%)	7 (23,3%)	$p \leq 0,956$
Преждевременная деградация акросомы	12 (12%)	3 (10%)	$p \leq 0,454$
Аномалии структуры центриоли, сегментированных столбиков в шейках сперматозоидов	0	0	0
Набухание митохондрий, деструкция крист, неупорядоченное положение митохондрий в среднем отделе жгутика	38 (38%)	7 (23,3%)	$p \leq 0,207$
Патологические изменения аксонемы	0	0	0

Аномалии фиброзной оболочки в основном отделе жгутика сперматозоида (избыточность)	2 (2%)	0	$p \leq 1,000$
Наличие цитоплазматических капель в области жгутика с признаками его дисплазии	22 (22%)	6 (20%)	$p \leq 0,812$
Наличие сегментоядерных нейтрофилов:			
- единичные клетки	21(21%)	6 (20%)	$p \leq 0,905$
- пиоспермия	5 (5%)	1 (3,3%)	$p \leq 0,865$
Наличие бактерий:	30 (30%)	4 (13,3%)	$p \leq 0,032$
Слизь	24 (24%)	7 (23,3%)	$p \leq 0,936$
Амилоидные тельца	18 (18%)	4 (13,3%)	$p \leq 0,718$
Наличие клеток сперматогенеза:			
- единичные клетки	11 (11%)	4 (13,3%)	$p \leq 0,747$
- в большом количестве	5 (5%)	2 (6,7%)	$p \leq 0,662$
- клетки с признаками деструкции	10 (10%)	2 (6,7%)	$p \leq 0,732$

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

Под нормозооспермией в формате ЭМИС понимали преобладание сперматозоидов с типичной структурой головки (не менее 30 % от всех просмотренных сперматозоидов), шейки и жгутика (рисунки 1).

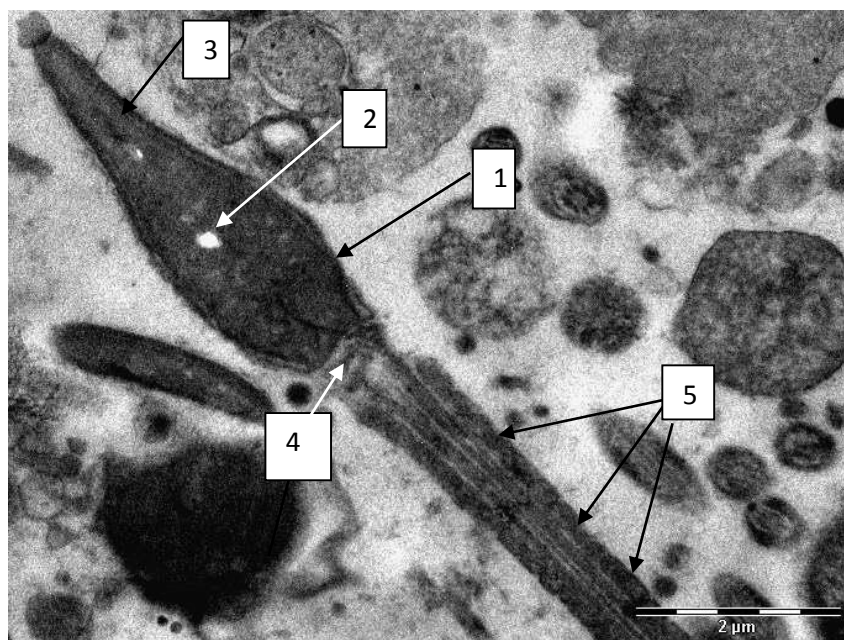


Рисунок 1 – Сперматозоид

Примечание: головка, типичная форма (1), зрелый хроматин гомогенного вида (2), акросома (3), шейка (4), средний отдел жгутика, типичная структура митохондрий (5), ув. x 11000.

Нормозооспермия являлась наиболее распространенным заключением в обеих группах, чаще диагностирована у подростков без варикоцеле, но статистически значимого различия не зафиксировано. В некоторых случаях при выполнении ЭМИС отмечалось уменьшение количества сперматозоидов в исследуемой пробе, при этом ультраструктура сперматозоидов могла оставаться без патологических изменений. Частота встречаемости такого заключения приблизительно одинакова в обеих группах.

У подростков обеих групп были обнаружены сперматозоиды с различными вариантами дисплазии головок и жгутиков (*рисунок 2 а, б*).

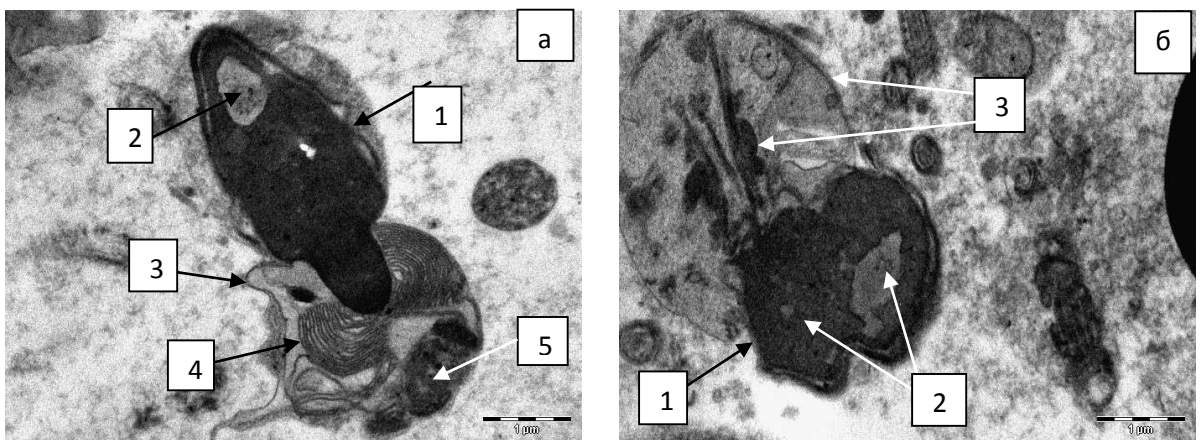


Рисунок 2 – Аномальные формы сперматозоидов, тяжелая дисплазия

Примечание: а – аномальная форма головки сперматозоида (1), вакуолизованный хроматин (2), цитоплазматическая капля (3), содержащая гиперплазированную ядерную мембрану (4), элементы недифференцированного жгутика (5); б – сдвоенная головка сперматозоида (1), неконденсированный, вакуолизованный хроматин (2), цитоплазматическая капля, содержащая недифференцированный жгутик (3). ув. x 8900.

Данные патологические изменения встречались в диагностически не значимом количестве, но их наличие обращает на себя внимание, а различные комбинации аномалий существенно повышают риск формирования infertility.

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 (*рисунок 3 а, б*), аномалии структуры акросомы (*рисунок 4 а, б; рисунок 5 а, б*) и ее деградация (*рисунок 5 в, г*)

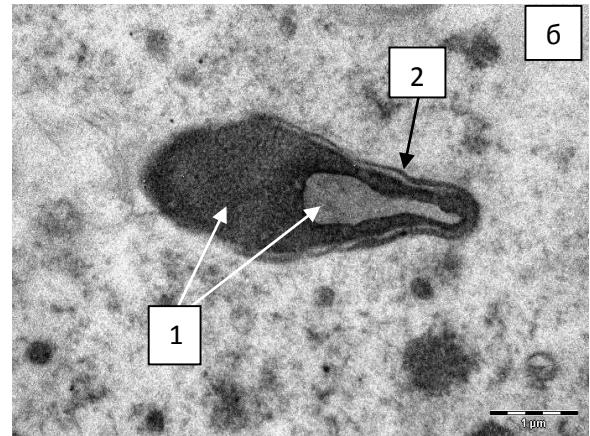
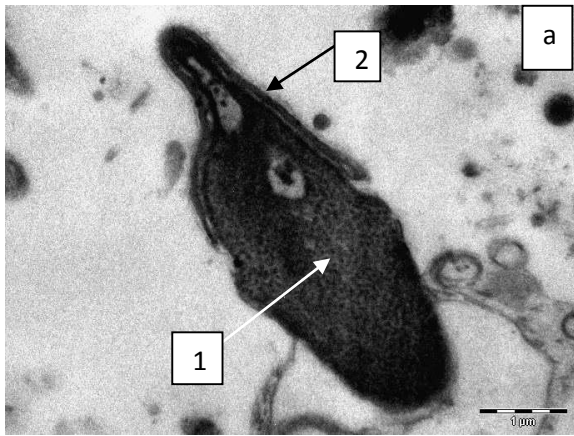


Рисунок 3 – Головки сперматозоидов

Примечание: а – макроголовка, anomальная форма, неконденсированный гранулярный хроматин (1), уменьшенный размер акросомы (2), ув. х 11000;
 б – типичная форма и размер головки сперматозоида, неконденсированный, гранулярный, вакуолизированный хроматин (1), типичная структура акросомы (2), ув. х 14000.

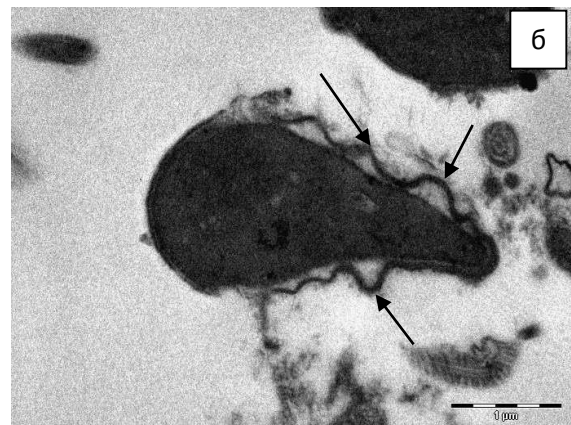
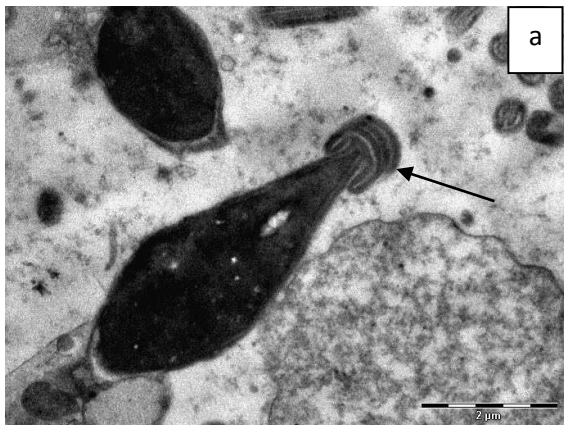


Рисунок 4 – Варианты избыточности акросомы

Примечание: а – дисплазия акросомы, ее избыточность, складчатость, ув. х 14000;
 б – избыточность акросомы, ее удаленное положение с расширением постакрсомального пространства (показано стрелками), ув. х 14000.

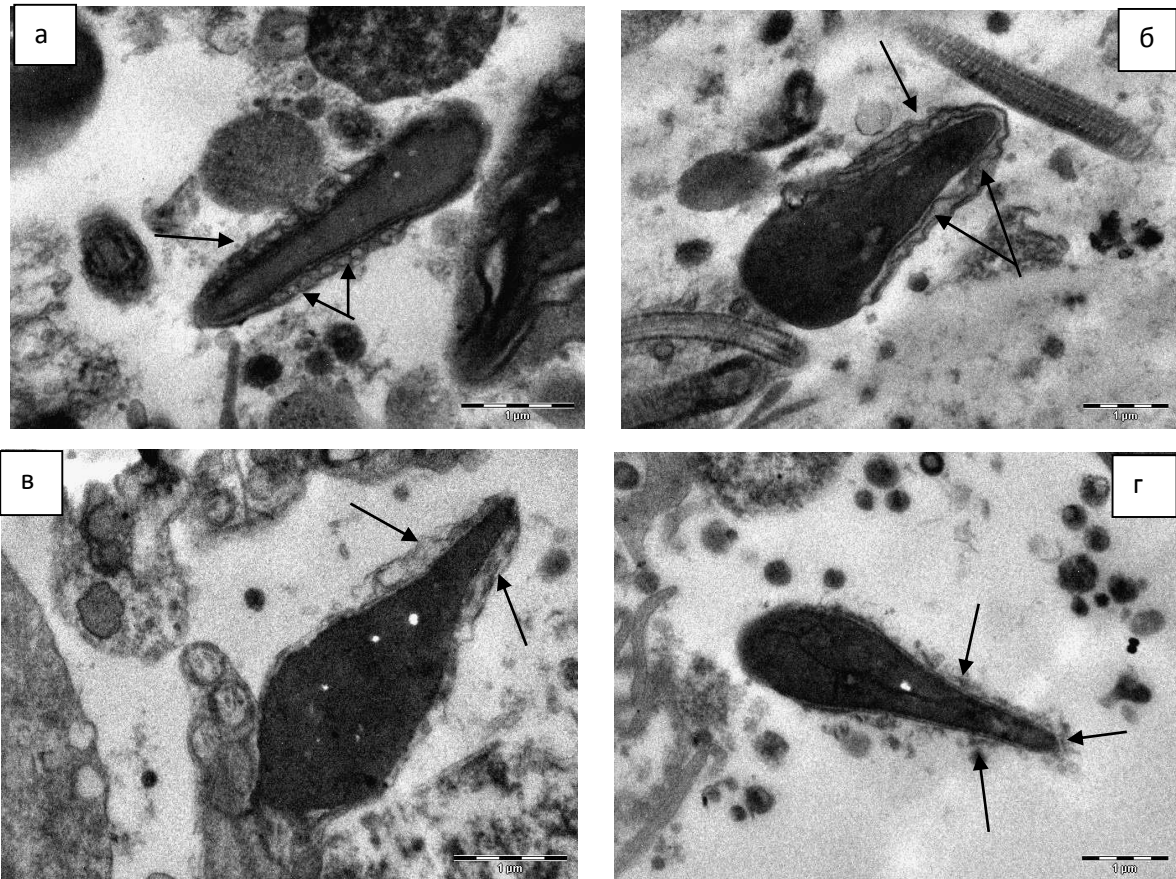


Рисунок 5 – Варианты патологических изменений акросомы

Примечание: а, б – некомпактное содержание акросомы; в, г – деградация акросомы (показано стрелками), ув. х 14000.

В структуре шеек и аксонемы жгутиков значимого количества патологических изменений не обнаружено ни в одной из групп обследуемых.

В среднем отделе жгутика выявлено повреждение митохондрий, их набухание, деструкция крист (*рисунок б б*), нередко неупорядоченное положение вокруг аксонемы. Чаще такие изменения были выявлены у подростков с варикоцеле, но статистически значимой разницы с пациентами группы сравнения не установлено.

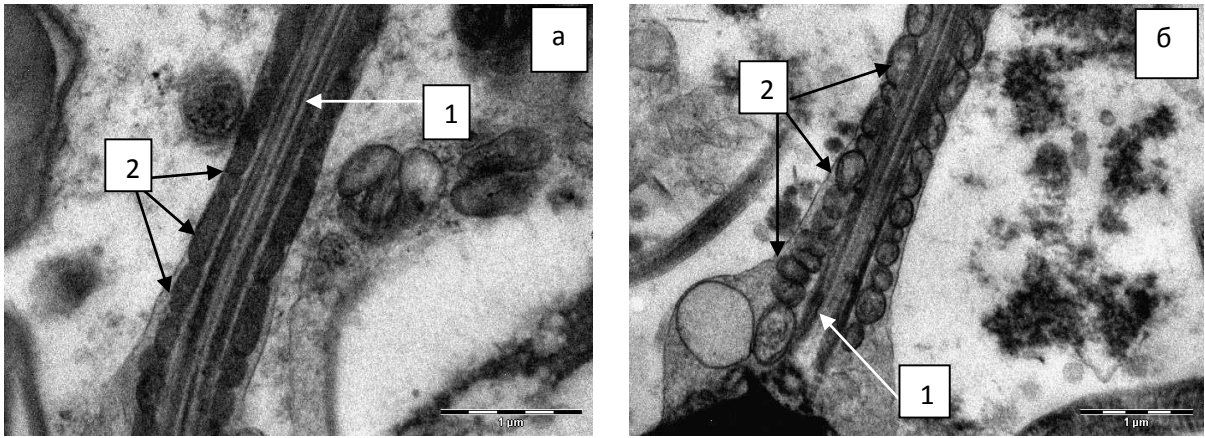


Рисунок 6 – Фрагмент среднего отдела жгутика

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

Не установлено статистически значимой разницы в частоте выявления сегментоядерных нейтрофилов в эякуляте подростков обеих групп (*рисунок 7*).

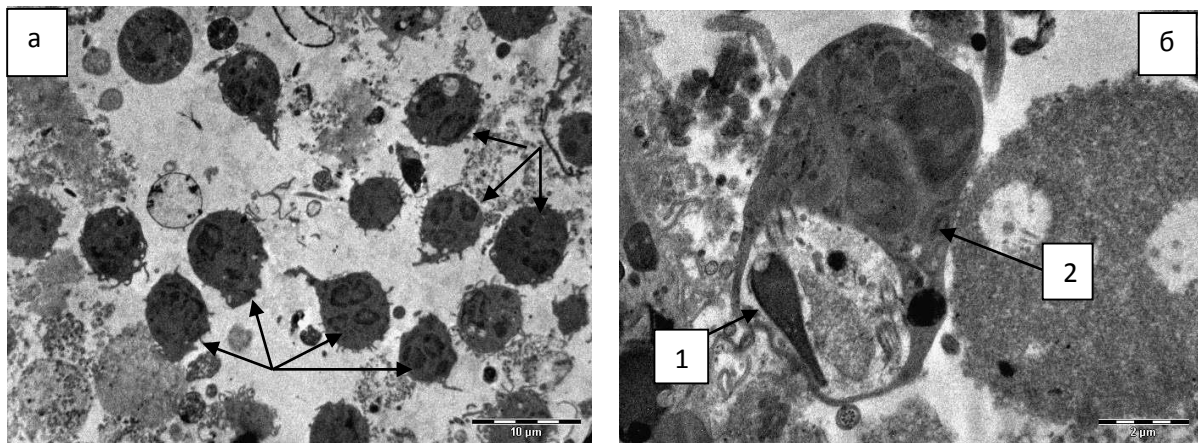


Рисунок 7 – Сегментоядерные нейтрофилы в эякуляте

Примечание: а – пиоспермия, ув. х 2200; б – фагоцитоз сперматозоида (1) сегментоядерным нейтрофилом (2), ув. х 3500.

Бактерии в эякуляте статистически значимо чаще обнаружены у подростков с варикоцеле (*рисунок 8 а*). Клетки сперматогенеза более часто были выявлены у подростков без варикоцеле (*рисунок 8 б*), но у подростков с варикоцеле чаще были определены деструктивные изменения этих клеток, хотя статистически значимой разницы между группами не удалось установить.

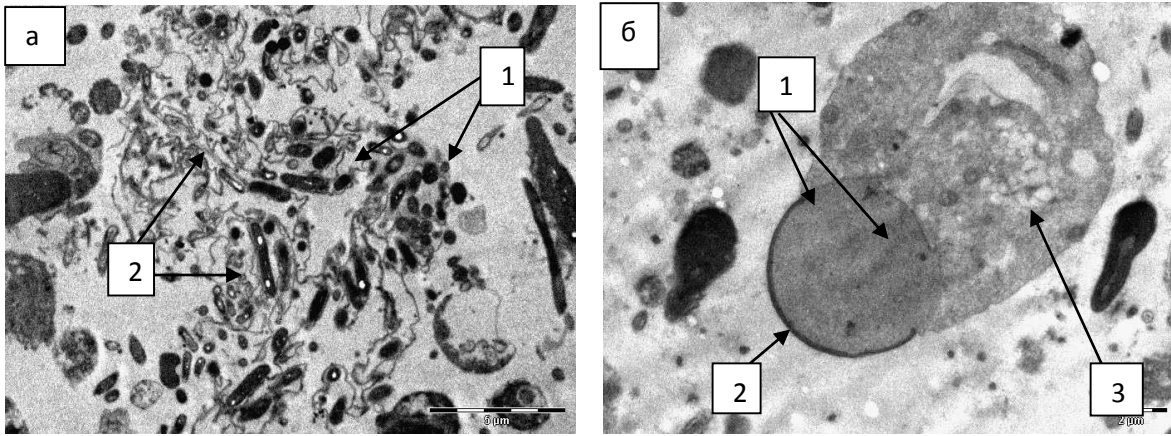


Рисунок 8 – Эякулят

Примечание: а – адгезия бактерий (1) на тяжах слизи (2), ув. х 3500; б - клетка сперматогенеза, круглая головка с разреженным хроматином (1), акросома (2), цитоплазма (3), ув. х 7100.

В ходе исследования не было выявлено ультраструктурных изменений сперматозоидов, характерных для варикоцеле.

Более детальное исследование ультраструктуры сперматозоидов в зависимости от степени варикоцеле, давности варикоцелеэктомии не выполнялось, в связи с небольшим количеством выявленных изменений и отсутствием статистически значимой разницы в частоте их встречаемости между группой подростков с варикоцеле и группой сравнения.

3.10 – Особенности микрофлоры эякулята

Методом культивирования эякулята на питательных средах у подростков с варикоцеле и без варикоцеле были обнаружены следующие виды бактерий, представленные в *таблице 31*.

Частота выявления бактерий в эякуляте культуральным методом одинакова у подростков обеих групп. Монокультуры бактерий выявлены в эякуляте обследуемых обеих групп, а ассоциации бактерий – только у подростков с варикоцеле.

Таблица 31 - 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≤0,238
	«++»	6(6%)	0	p≤0,008
	«+++»	3(3%)	0	p≤0,810
<i>Enterococcus faecalis</i> (Гр+кокки)	«++»	3(3%)	0	p≤0,810
<i>Escherichia coli</i> (Гр-палочки)	«++»	0	2(6,6%)	p≤0,147
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (Гр+кокки)	«+»	0	2(6,6%)	p≤0,147
Mixt				
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (Гр+кокки) / <i>Streptococcus anginosus</i> (Гр+кокки)	«+++»/	3(3%)	0	p≤0,810
	«+++»			
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (Гр+кокки)/ / <i>Corynebacterium</i> <i>minitissimum</i> (Гр+ палочки)	«+»/	3(3%)	0	p≤0,810
	ед. колонии			
<i>Enterococcus faecalis</i> (Гр+кокки)/ <i>Escherichia coli</i> (Гр-палочки)	«+++»/	3(3%)	0	p≤0,810
	«+++»			
Итого:		27(27%)	8(26,6%)	

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

При выполнении спермограммы и электронно-микроскопического исследования сперматозоидов (ЭМИС) помимо оценки параметров эякулята и морфологии сперматозоидов также были обнаружены бактерии.

Основная группа

Наиболее выраженные изменения показателей эякулята выявлены у трех человек, у которых при бактериологическом посеве был определен обильный рост

St. haemolyticus и *Str. anginosus*, при этом в спермограмме у всех троих была определена астенозооспермия со снижением всех видов подвижности. Бактерии были обнаружены в спермограмме и при этом отмечались признаки воспалительной реакции – наличие сегментоядерных нейтрофилов, тяжелой слизи. При ЭМИС в сперматозоидах обнаружены повреждения хроматина, акросомы в головках и митохондрий в жгутиках, бактерии.

Также снижение прогрессивной подвижности сперматозоидов зафиксировано в шести случаях, когда методом посева эякулята выявлен обильный рост *C. glucuronolyticum*, а также при смешанном росте *St. epidermidis* и *C. minutissimum*, сопровождающийся вискозипатией эякулята. Методом ЭМИС обнаружены повреждения митохондрий и акросомы, но только в трех случаях выявлены бактерии. В тех случаях, когда бактерии методом электронной микроскопии не были обнаружены, при бактериальном посеве диагностирован скудный рост микроорганизмов. Это связано с различной чувствительностью методов: при микроскопии бактерии определяют при их титре $\geq 10^5$ КОЕ/мл, культуральным методом - при $\geq 10^2$ КОЕ/мл.

В шести случаях выявлен скудный рост *C. glucuronolyticum*, при этом в спермограмме диагностирована нормозооспермия. Бактерии в спермограмме обнаружены в трех случаях. Методом ЭМИС в этих случаях определена типичная ультраструктура сперматозоидов, а бактерии не обнаружены.

Умеренный рост был выявлен у нескольких видов бактерий: *C. glucuronolyticum* (шесть случаев, статистически значимое отличие от подростков без варикоцеле), *E. faecalis* (три случая) и сочетание *E. faecalis* и *E. coli* (три случая). При этом, в трех случаях, когда была диагностирована *C. glucuronolyticum*, определена и астенозооспермия, а в остальных случаях определена олигоспермия при нормальных остальных показателях. При астенозооспермии при ЭМИС обнаружены повреждения митохондрий, обилие слизи, единичные сегментоядерные нейтрофилы и бактерии. В остальных пробах ультраструктура митохондрий без особенностей, но также обнаружены тяжёлая слизь, единичные

сегментоядерные нейтрофилы и клетки плоского эпителия с адгезированными на них бактериями.

В случаях наличия только *E. faecalis* или сочетание *E. faecalis* и *E. coli* диагностирована нормозооспермия, но при сочетании бактерий единичные микроорганизмы были обнаружены при ЭМИС.

Только методом спермограммы (при отрицательном бактериальном посеве) бактерии в небольшом количестве были обнаружены у четырех человек и в умеренном количестве у двух человек. Вероятно, таким образом были обнаружены некультивируемые формы в титре $>10^5$ КОЕ/мл. При этом во всех этих случаях отмечалась астенозооспермия, причем у двух человек с умеренной бактериоспермией снижены все категории подвижности, обнаружены лейкоциты в эякуляте. У остальных четырех человек зафиксирована олигоспермия и снижение категории подвижности «А». При ЭМИС во всех этих случаях бактерии не обнаружены, но определено повреждение митохондрий, наличие тяжелой слизи, а сегментоядерные нейтрофилы выявлены только у двух человек, что и в спермограмме.

Только методом ЭМИС бактерии в эякуляте обнаружены у 12 человек, причем у шести человек обнаружены единичные бактерии или отмечалась их адгезия на эпителиальных клетках, что может расцениваться как контаминация образца эякулята бактериями кожных покровов (*рисунок 9 а*). При этом диагностирована нормозооспермия как в спермограмме, так и при электронномикроскопическом исследовании эякулята. В остальных шести случаях в спермограмме определена астенозооспермия, сопровождающаяся снижением всех видов подвижности сперматозоидов, вискозипатия эякулята. При ЭМИС обнаружены повреждения акросомы, митохондрий, наличие крупных колоний бактерий (*рисунок 9 б*) и сегментоядерных нейтрофилов.

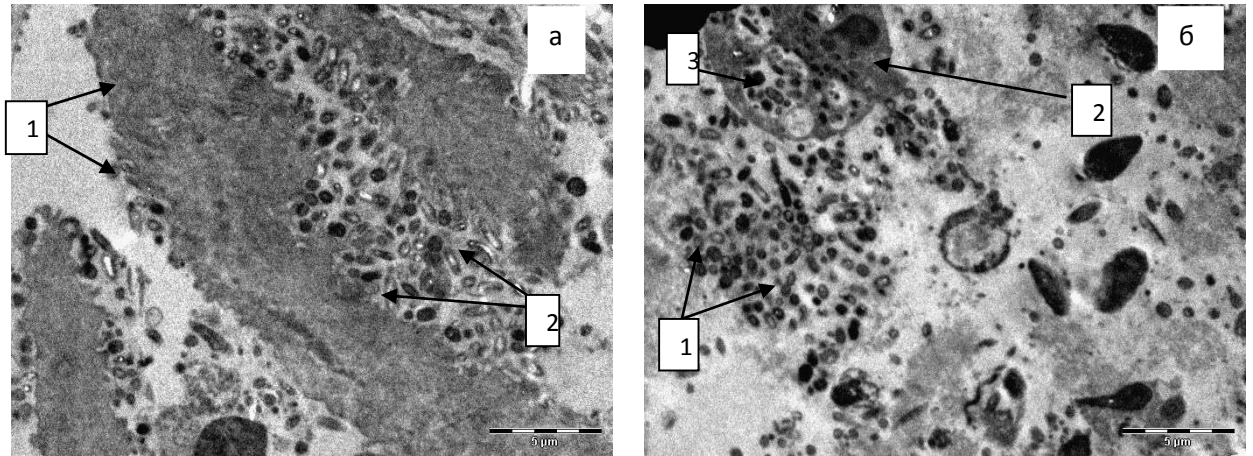


Рисунок 9 – Бактерии в эякуляте

Примечание: а – фрагмент клетки плоского эпителия (1), адгезия бактерий (2), ув. х 3500; б – колония бактерий (1), сегментоядерный нейтрофил (2), фагоцитоз бактерий (3), ув. х 2800.

В трех случаях бактерии в эякуляте были обнаружены при выполнении спермограммы и ЭМИС, а результаты бактериологического посева были отрицательны. При этом в спермограмме диагностирована нормозооспермия и небольшое количество бактерий. При ЭМИС также выявлена типичная структура сперматозоидов, а единичные бактерии были адгезированы на клетках плоского эпителия.

Группа сравнения

У четырех человек метом бактериологического посева эякулята выявлен скудный рост *S. glucuronolyticum*, при этом только в одном из этих случаев в спермограмме зафиксировано снижение поступательного движения сперматозоидов, в остальных трех случаях выявлена олигоспермия, а все остальные параметры эякулята в пределах нормы. Методом ЭМИС диагностирована нормозооспермия. В спермограмме и при электронномикроскопическом исследовании эякулята бактерии в этих случаях обнаружены не были.

Скудный рост *St. epidermidis* определен у двух человек. В спермограмме у этих подростков диагностирована нормозооспермия, но при этом выявлены единичные лейкоциты и бактерии. При ЭМИС также определена типичная

ультраструктура сперматозоидов, а единичные бактерии были адгезированы на клетках плоского эпителия.

Еще в двух случаях на питательных средах были выявлены *E. coli*, умеренный рост. При оценке параметров эякулята в спермограмме диагностирована астенозооспермия, вискозипатия, а при ЭМИС – повреждение митохондрий в среднем отделе жгутика, при этом бактерии в эякуляте этими методами не были обнаружены.

Еще у двух подростков бактерии в небольшом количестве были обнаружены в спермограмме, при этом зафиксирована нормозооспермия и в одном случае олигоспермия. На ультраструктурном уровне также определена нормозооспермия, бактерии при этом виде исследования не обнаружены, как и при бактериальном посеве в этих двух случаях.

Частота диагностики бактериоспермии разными методами представлена в таблице 32.

Таблица 32 – Частота выявления бактериоспермии разными методами

Метод диагностики бактериоспермии	Частота выявления бактериоспермии	
	Основная группа, n=100	Группа сравнения, n=30
Бактериальный посев эякулята	9 (9%)	4 (13%)
Спермограмма	6 (6%)	2 (6,6%)
ЭМИС	12 (12%)	2 (6,6%)
Бактериальный посев эякулята спермограмма	3 (3%)	2 (6,6%)
Бактериальный посев эякулята + ЭМИС	12 (12%)	0
Спермограмма + ЭМИС	3 (3%)	0
Бактериальный посев эякулята спермограмма + ЭМИС	3 (3%)	2 (6,6%)
Всего	48(48%)	12(40%)

Из данных таблицы следует, что применение нескольких методов диагностики бактериоспермии существенно повысило выявляемость микрофлоры в эякуляте у подростков обеих групп.

Результаты выявления патологических изменений показателей спермограммы при наличии бактерий представлены в *таблице 33* (следует учитывать возможность комбинации различных видов патологических изменений параметров эякулята). При этом результаты оценки сперматозоидов методом ЭМИС не учитывались, так как они носят вспомогательный характер для более детальной оценки патологических изменений сперматозоидов, а не всех параметров эякулята.

Таблица 33 – Частота выявления патологических изменений показателей спермограммы при бактериоспермии при выполнении бактериального посева эякулята, спермограммы и электронно-микроскопического исследования сперматозоидов (ЭМИС)

Вариант заключения спермограммы	Частота выявления культуральным методом, в спермограмме и методом ЭМИС		p
	Основная группа, n=48	Группа сравнения, n=12	
Нормозооспермия	24(50 %)	7(58 %)	$p \leq 0,618$
Астенозооспермия	22(45,8 %)	2(16,6 %)	$p \leq 0,027$
Тератозооспермия	1(2,1 %)	0	$p \leq 1,000$
Олигоспермия	10 (20,1 %)	4(33,3 %)	$p \leq 0,317$
Вискозипатия	10(20,1 %)	2(16,6 %)	$p \leq 0,775$

Примечание: p - статистически значимые различия ($p < 0,05$).

У подростков с варикоцеле в большем количестве случаев выявлены различные варианты патологических изменений параметров эякулята, но статистически значимых различий не установлено.

Наибольшее количество случаев астенозооспермии зафиксировано при наличии бактерий в эякуляте. Таким образом, патоспермия у обследуемых подростков в большинстве случаев обусловлена присутствием бактерий в эякуляте,

относящихся к типичной микрофлоре кожи, а также к оппортунистической и условно-патогенной микрофлоре.

3.11 – Морфология вен семенного канатика при варикоцеле

3.11.1 – Гистологические изменения вен

Биоптат дистальной яичковой вены, исследованный в качестве контрольного материала, представлен поперечными срезами сосуда на трех разных уровнях. Отчетливо визуализировался эндотелиальный монослой, представленный уплощенными клетками, лежащими на подлежащей мембране и на тонком субэндотелиальном слое. Внутренняя оболочка без четких границ переходит в среднюю оболочку, представленную гладкими мышечными клетками и соединительнотканными волокнами, образующими валикообразные выступы в просвет сосуда. Во внутреннем слое гладкие мышечные клетки ориентированы продольно. В среднем слое (медии) определялись циркулярно ориентированные гладкие мышечные клетки, чередующиеся с прослойками фиброзных и эластических волокон. Адвентиция была несколько разволокнена, содержала продольно ориентированные обособленные пучки гладких мышечных клеток и мелкие кровеносные сосуды *vasa vasorum*.

Во всех наблюдениях вен обеих групп имела место дисконфлексация эндотелия различной степени выраженности, которая проявлялась утолщением эндотелиоцитов, определяемом в шести случаях (50 %) при варикоцеле II степени и 12 случаях (43 %) при III степени варикоцеле. Вакуолизация цитоплазмы эндотелиоцитов была отмечена в девяти случаях (75 %) при II степени варикоцеле и в 24 случаях (86 %) при III степени варикоцеле (*рисунок 10*). Деструктивные изменения эндотелиальных клеток не были зафиксированы при II степени варикоцеле, тогда как количество таких случаев при варикоцеле III степени составило 13 (46 %). Кроме того, была выявлена частичная десквамация эндотелиоцитов, проявлявшаяся вертикальным расположением клеток в просвет сосуда. Такие клетки были обнаружены в венах обеих групп и количество таких

наблюдений составило девять случаев (75 %) и 23 случая (82 %) соответственно. Также при обеих степенях варикоцеле в венах обнаружено отторжение эндотелиоцитов, следствием чего являлась частичная или субтотальная дезэндотелизация внутренней поверхности вены, которая составила 7 случаев (58 %) при варикоцеле II степени и 20 случаев (71 %) при варикоцеле III степени (рисунок 10). В результате десквамации эндотелия в просветах сосудов были видны скопления свободнолежащих эндотелиоцитов, фрагменты соединительнотканых волокон субэндотелиального слоя и базальной мембраны, фрагменты венозных клапанов.

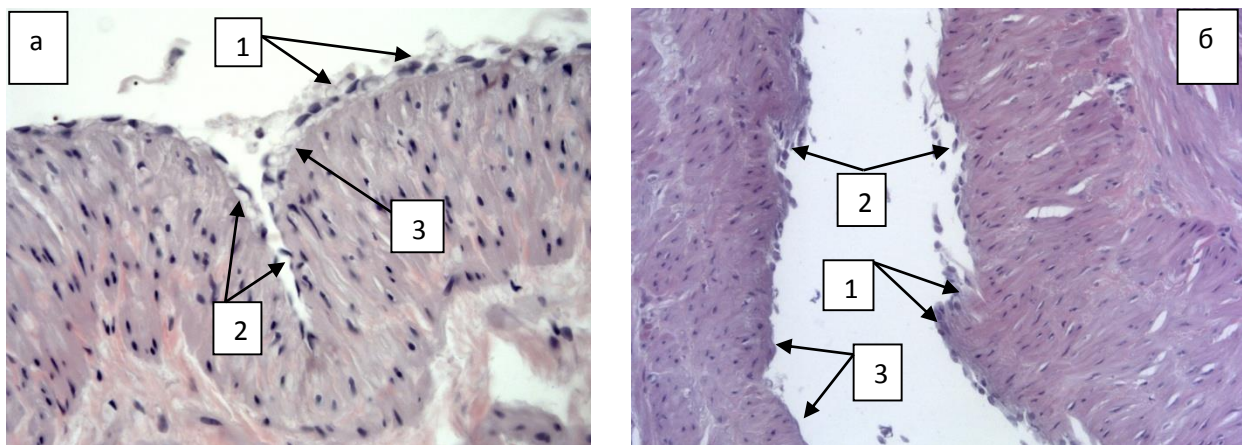


Рисунок 10 - Фрагмент поперечного среза вены семенного канатика

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

Изменения базальной мембраны выявлены в семи случаях (58 %) при II степени и в 28 случаях (100 %) при III степени варикоцеле, а изменения субэндотелиального слоя – в 10 случаях (83 %) и 22 случаях (79 %) соответственно. В большинстве препаратов 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. Образование таких валиков было выявлено в четырех случаях (33 %) при II степени варикоцеле и в 13 случаях (46 %) при III степени варикоцеле (рисунок 11).

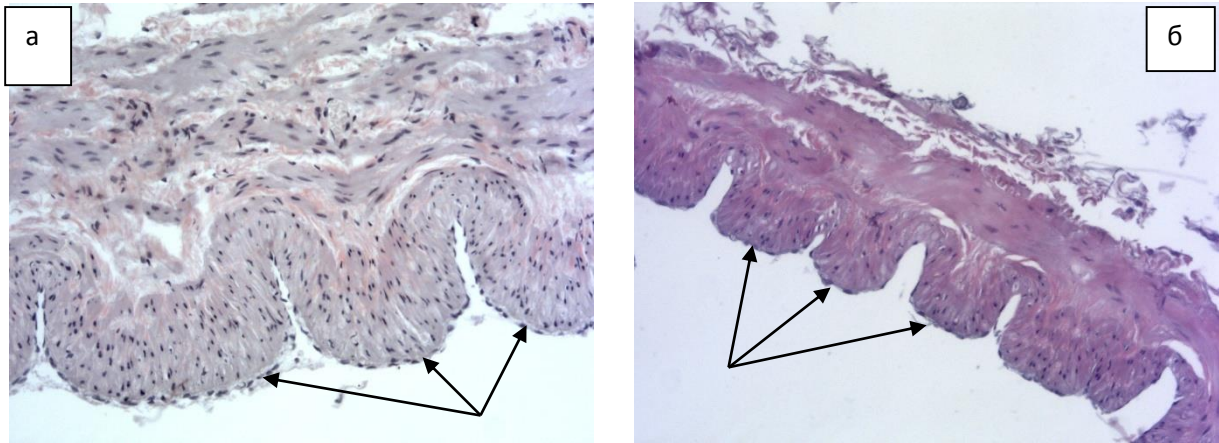


Рисунок 11 - Фрагмент поперечного среза вены семенного канатика

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

В стенках вен обеих групп были обнаружены гипертрофия гладких мышечных клеток и склероз. При II степени варикоцеле гипертрофия и склероз диагностированы в 11 случаях (91 %), в то время как при III степени варикоцеле гипертрофия гладких мышечных клеток зафиксирована в 25 случаях (89 %), а склероз в 27 случаях (96 %) (*рисунок 12*).

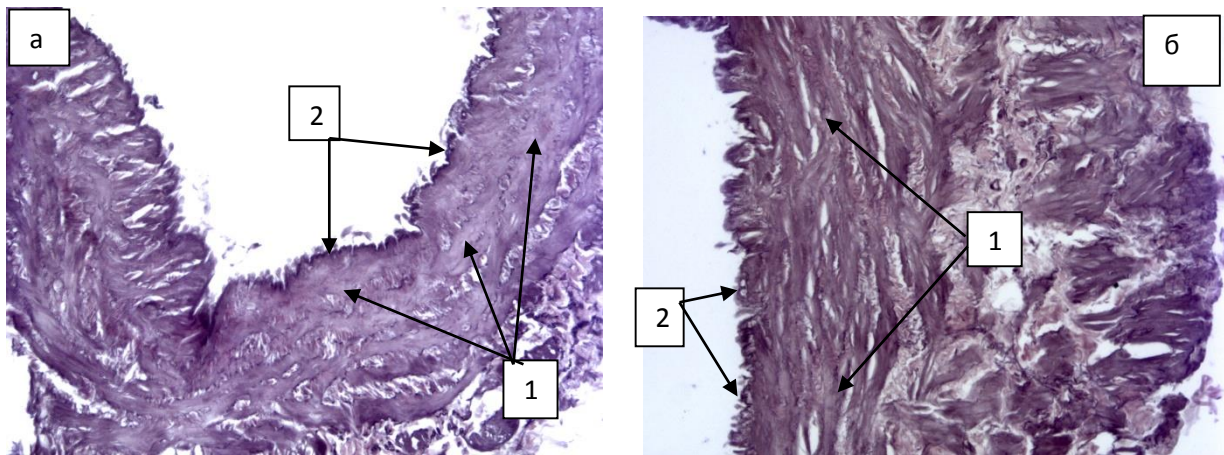


Рисунок 12 - Фрагмент поперечного среза вены семенного канатика

Примечание: склероз стенки вены (1), сглаженность внутренней поверхности сосуда (2), окр. по Ван Гизон, ув. х 200; а - варикоцеле II ст., б - варикоцеле III ст.

При этом в девяти случаях (75 %) при варикоцеле II степени был отмечен отек меди, а при III степени отек определялся в 17 случаях (61 %). В небольшом количестве случаев - два случая (16 %) при II степени и 3 случая (11 %) при III

степени варикоцеле - на фоне утолщения и склероза меди были видны мелкие лимфоидно-гистиоцитарные инфильтраты. Склероз адвентиции сосудов обнаружен в девяти случаях (75 %) при II степени варикоцеле и в 16 случаях (57 %) при III степени варикоцеле. Признаков дисплазии соединительной ткани не выявлено во всех исследуемых биоптатах. Результаты гистологического исследования вен при II и III степени варикоцеле представлены в *таблице 34*.

Таблица 34 - 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
Утолщение эндотелиоцитов	6 (50 %)	12 (43 %)	$p \leq 0,945$
Вакуолизация эндотелиоцитов	6 (50 %)	24 (86 %)	$p \leq 0,046$
Деструктивные изменения эндотелиоцитов	0 (0 %)	13 (46 %)	$p \leq 0,003$
Частичная десквамация эндотелия, вертикальное положение клеток	9 (75 %)	23 (82 %)	$p \leq 0,931$
Деэндотелизация внутренней поверхности вены	7 (58 %)	20 (71 %)	$p \leq 0,658$
Изменения базальной мембраны	7 (58 %)	28 (100 %)	$p \leq 0,002$
Изменения субэндотелиального слоя	10 (83 %)	22 (79 %)	$p \leq 0,765$
Валики стенки вены	4 (33 %)	13 (46 %)	$p \leq 0,504$
Гипертрофия гладких мышечных клеток	11 (91 %)	25 (89 %)	$p \leq 0,845$
Склероз меди	11 (91 %)	27 (96 %)	$p \leq 0,584$
Отек меди	9 (75 %)	17 (61 %)	$p \leq 0,613$
Склероз адвентиции	9 (75 %)	16 (57 %)	$p \leq 0,467$
Лимфо-гистиоцитарные инфильтраты	2 (16 %)	3 (11 %)	$p \leq 0,626$

Примечание: статистически значимые различия, $p \leq 0,05$

При гистологическом исследовании вен установлено, что при III степени варикоцеле статистически чаще, чем при II степени, были выявлены вакуолизация

цитоплазмы эндотелиоцитов и их деструктивные изменения, изменения базальной мембраны стенки вены, образование валиков. Частота встречаемости остальных изменений приблизительно одинакова в обеих группах.

3.11.2 – Ультраструктурные изменения вен

Внутренний слой нормальной вены был представлен эндотелиоцитами, плотно прилежащими к внутренней эластической мембране на всем протяжении клетки (*рисунок 13 а*). Края эндотелиоцитов соседних клеток наслаивались друг на друга, образуя ровный, непрерывный, интактный монослой. Поверхность клеток гладкая, ровная, без цитоплазматических отростков. Эндотелиоциты одинаковых размеров, имели вытянутую форму. Ядра также были вытянутой формы с ровными контурами или незначительными инвагинациями ядерной мембраны (*рисунок 13 а*). Наибольшая толщина клеток определялась в области ядер. Цитоплазматический матрикс эндотелиоцитов гомогенного вида, содержал фрагменты эндоплазматической сети с равномерными просветами канальцев. Просматривались единичные митохондрии, имеющие типичную структуру. Субэндотелиальный слой ровный, равномерной толщины на всем протяжении.

Внутренняя эластическая пластинка, разграничивающая внутреннюю и среднюю оболочки сосуда, тонкая, представлена упорядоченно расположенными волокнами соединительной ткани. Гладкие мышечные клетки просматривались вблизи субэндотелиального слоя и в стенке вены (*рисунок 13 б*).

Оценивали состояние гладких мышечных клеток, толщину коллагеновых и эластических волокон. В стенке нормальной вены гладкие мышечные клетки образовывали четко выраженные пучки, между которыми видны равномерные прослойки соединительной ткани (*рисунок 13 б*). Гладкие мышечные клетки имели вытянутую или неправильную полигональную форму. Цитоплазматический матрикс гомогенного вида. Митохондрии в небольшом количестве, имели типичную структуру, локализовались, преимущественно, в перинуклеарной зоне. Ядра гладких мышечных клеток также вытянутой формы. Ядерная мембрана в большинстве случаев ровная либо с небольшими инвагинациями. Хроматин

гомогенного вида. Соединительнотканые прослойки между гладкими мышечными клетками не превышали толщины клеток, волокна хорошо визуализировались.

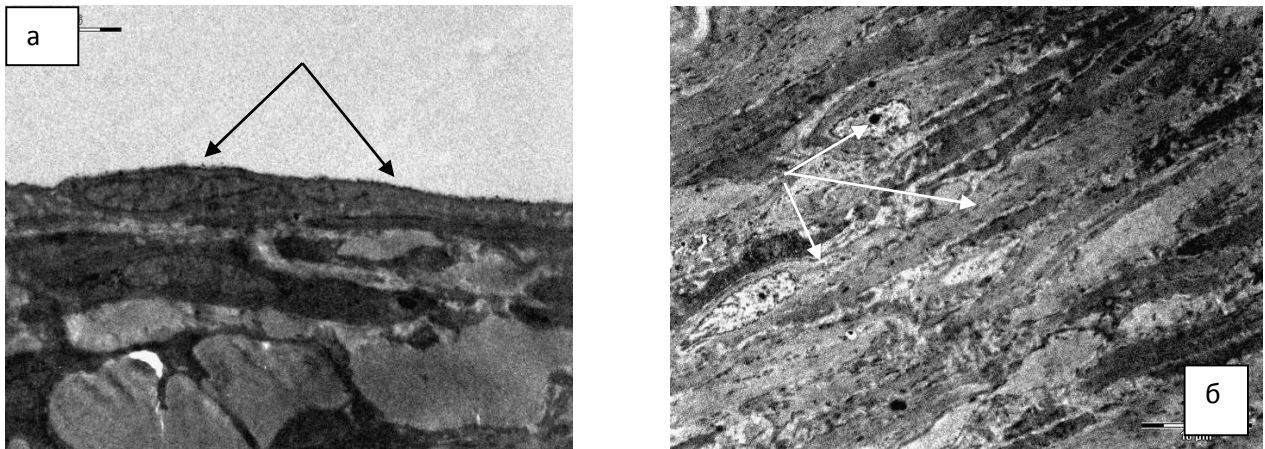


Рисунок 13 - Фрагменты яичковой вены

Примечание: а – эндотелиоцит, типичная структура, норма, ув. х 7100;
б – гладкие мышечные клетки стенки вены, типичная структура (показано стрелками), тонкие прослойки эластических и коллагеновых волокон, норма, ув. х 2200.

При исследовании биоптатов вен при варикоцеле была выявлена дезэндотелизация внутреннего слоя сосудов разной степени выраженности (*рисунок 14 а*). Так, десквамация эндотелиоцитов на отдельных участках обнаружена в 12 (30 %) случаях. В 11 (25,6 %) случаев установлено равное соотношение участков дезэндотелизации и участков, на которых сохранились эндотелиоциты. Преобладание участков дезэндотелизации на всем протяжении внутреннего слоя сосуда, вплоть до того, что были обнаружены лишь единичные эндотелиальные клетки, было определено в 20 (46,4 %) случаях.

Во всех просмотренных случаях (100 %) выявлена дезорганизация эндотелиоцитов. Клетки были утолщены, утратили вытянутую форму, чаще наблюдалась неправильная, полигональная форма клеток, которые лишь частично прилежали к базальной мембране либо краями, образуя просветы между цитоплазматической мембраной и субэндотелиальным слоем, либо одним краем, при этом тело клетки было ориентировано в просвет сосуда под углом или вертикально (*рисунок 14 б*). Такая частичная отслойка эндотелиоцитов обнаружена

в 39 (90,7 %) случаях. В остальных случаях эндотелиоциты прилежали к базальной мембране, но не контактировали между собой и в образовавшихся пространствах был виден оголенный субэндотелиальный слой. В эндотелиоцитах была разрыхлена цитоплазматическая мембрана, уменьшена площадь цитоплазмы. Ядра имели неправильную форму с глубокими инвагинациями ядерной мембраны, резко деформирующими ядра. Митохондрии были набухшие, с разрушенными кристами, просветленным митохондриальным матриксом (рисунки 14 в). Отмечалась вакуолизация цитоплазмы, иногда с образованием крупных вакуолей. В пяти случаях (11,6 %) было зафиксировано напластование измененных эндотелиоцитов с образованием многослойных участков.

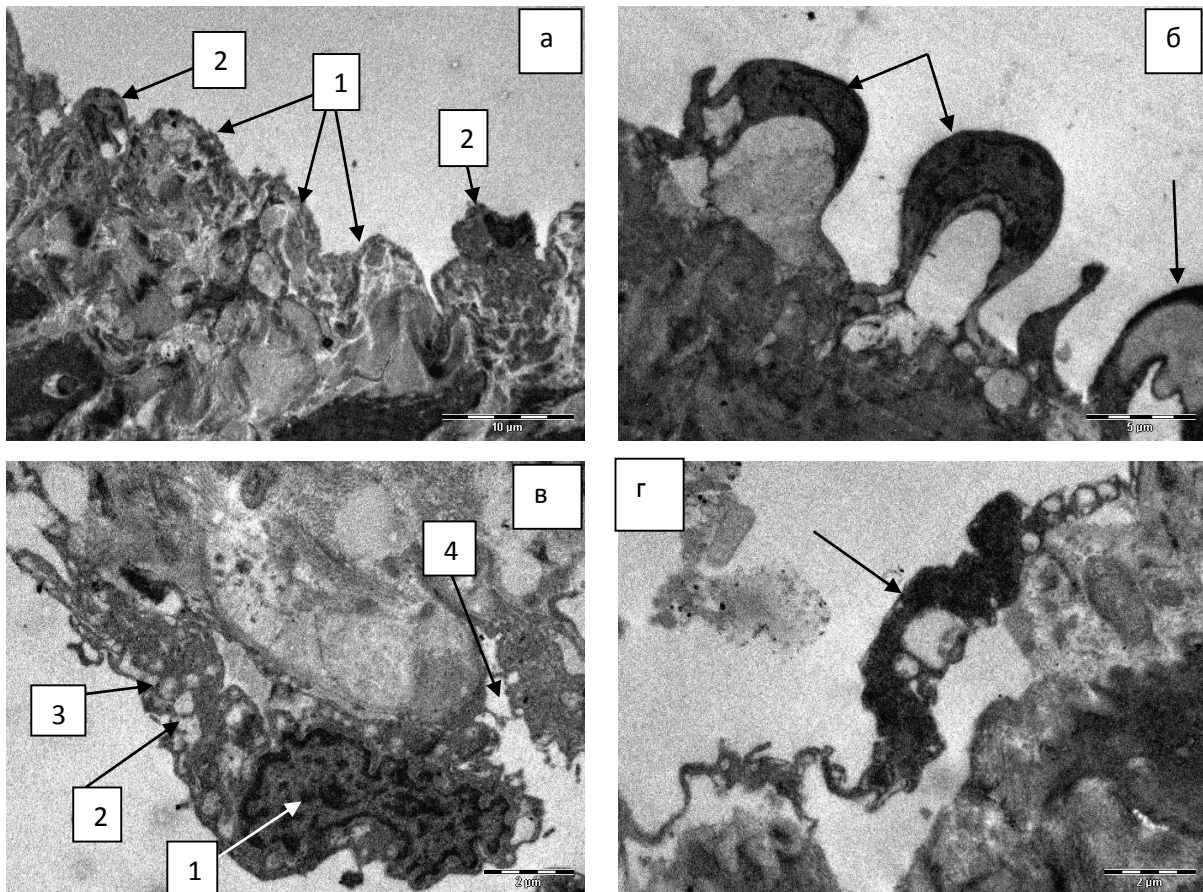


Рисунок 14 - Фрагмент внутреннего слоя семенной вены при варикоцеле

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 (1), уменьшение объема цитоплазмы, вакуолизация цитоплазмы (2), набухание митохондрий (3), просвет между эндотелиоцитами (4), ув. х 7100;

г – некроз и десквамация эндотелиоцита (показано стрелкой), ув. х 7100.

Были выявлены некротизированные эндотелиоциты - единичные в 25 (58,1 %) случаев, а некроз обширных участков клеток был определен в 15 (34,8 %) случаев. В таких эндотелиоцитах выявлено уплотнение и осмиофилия цитоплазмы, просматривались фрагменты клеток или остатки цитоплазмы (рисунок 14г).

Диагностирована адгезия тромбоцитов и эритроцитов к измененной поверхности эндотелиоцитов и оголенному субэндотелиальному слою в 11 (25,6 %) случаев (рисунок 15 а). Кроме того, обнаружены эритроциты и тромбоциты, задержанные в промежутках между эндотелиальными клетками (рисунок 15 б), частично десквамированными эндотелиоцитами, на участках многослойных клеток.

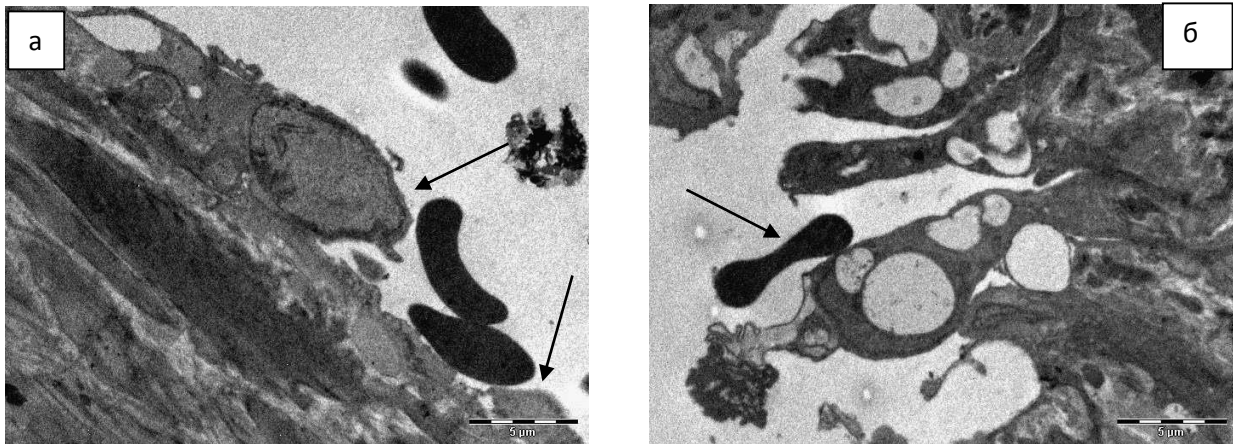


Рисунок 15 - Фрагмент внутреннего слоя семенной вены при варикоцеле

Примечание: а – адгезия эритроцитов к оголенному субэндотелиальному слою, задержка эритроцитов измененным эндотелием (показано стрелками), ув. х 3500; б – фиксация эритроцита между эндотелиоцитами (показано стрелкой), ув. х 3500.

Субэндотелиальный слой был утолщен, и во всех просмотренных случаях выявлены валики разной степени выраженности или неровность внутреннего слоя, что не наблюдалось в нормальной вене (рисунки 14 а, 16 а). Единичные валики на неровной внутренней поверхности сосудистой стенки обнаружены в 14 (32,5 %) случаев. Умеренное количество валиков, когда участки с валиками чередовались с относительно ровной поверхностью субэндотелиального слоя, было зафиксировано в 20 (46,5 %) случаев. Установлено наличие валиков на всей просмотренной внутренней поверхности сосуда без ровных промежутков в 9 (21 %)

случаях. При этом в большинстве случаев – 35 (81,4 %) – валики были невысокие и неглубоко вдавались в просвет сосуда. Валики были крупными в 8 (18,6 %) случаях. Во всех случаях между валиками были видны углубления различной величины, в которых также фиксировались эритроциты (*рисунок 16 б*), тромбоциты и деструктивно измененные, сдавленные эндотелиоциты (*рисунок 16 а*). На срезах валиков в 11 (25,6 %) случаях обнаружены гладкие мышечные клетки с признаками деструкции или разрушенные клетки (*рисунок 16 а*), а в 17 (39,5 %) случаях было отмечено разрыхление и отечность соединительной ткани.

В меди венной стенки преобладали сохранные гладкие мышечные клетки, преимущественно образующие пучки с прослойками соединительной ткани равномерной толщины. Деструктивные изменения гладких мышечных клеток проявлялись вакуолизацией цитоплазмы, либо мелкими вакуолями, либо формированием крупных перинуклеарных вакуолей (*рисунок 16 в*). Изменения единичных мышечных клеток выявлены в 33 (76,6 %) случаях, в 10 (23,4 %) случаях определены изменения большого количества клеток.

Склероз стенок вен определялся либо как утолщение соединительнотканых прослоек между гладкими мышечными клетками, существенно превышающих толщину клеток, в 20 (46,5 %) случаях, либо формированием массивных грубых тяжей в 21 (53,5 %) случае (*рисунок 16 г*).

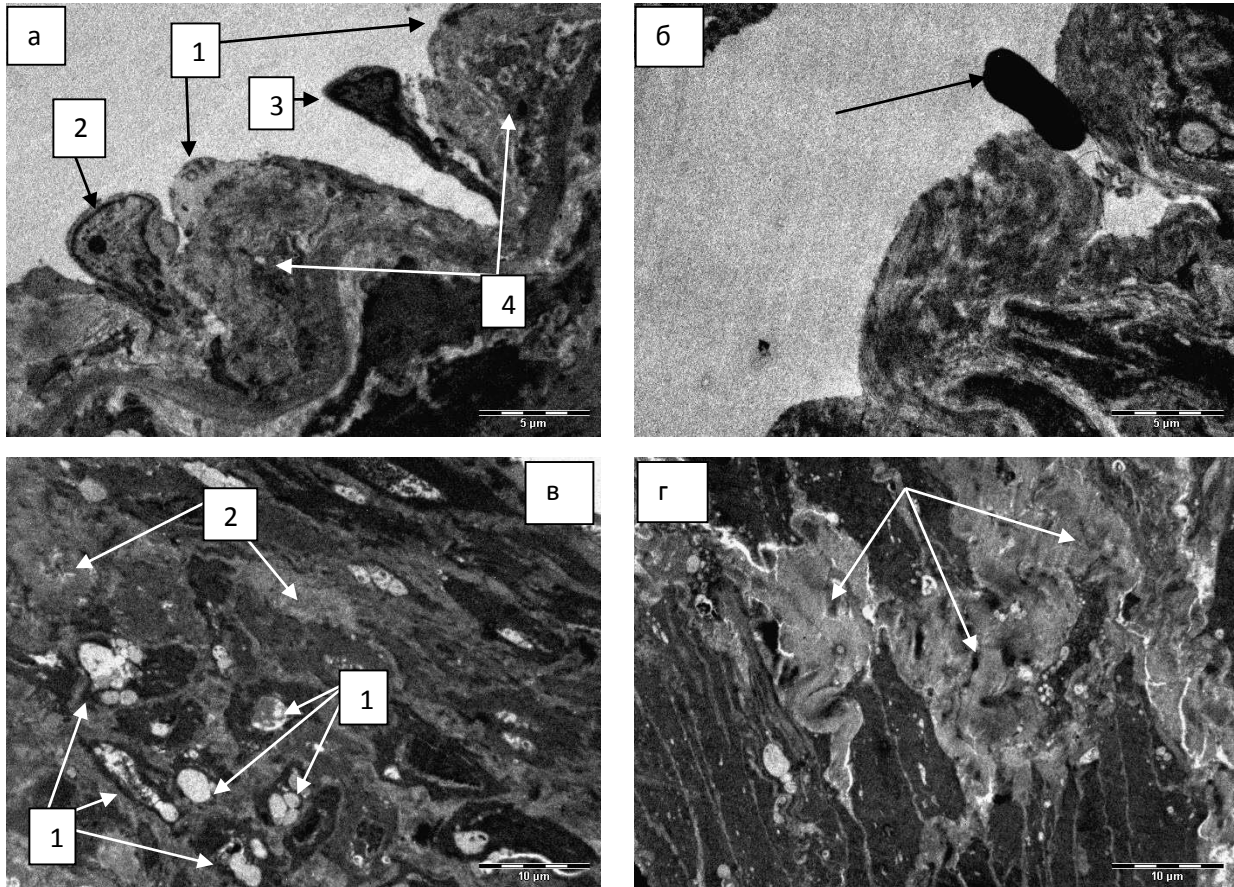


Рисунок 16 - Фрагмент стенки семенной вены при варикоцеле

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), ув. х 3500; в – деструктивные изменения гладких мышечных клеток в меди сосудистой стенки (1), утолщение соединительнотканых прослоек (2), ув. х 1800; г – массивные тяжи соединительной ткани в стенке вены (показано стрелками), ув. х 1800.

Разрыхление соединительной ткани было установлено в 17 (39,5 %) случаях. В двух (4,7 %) случаях обнаружены аномальные сосудистые структуры с незавершенной клеточной дифференцировкой (*рисунок 17*).

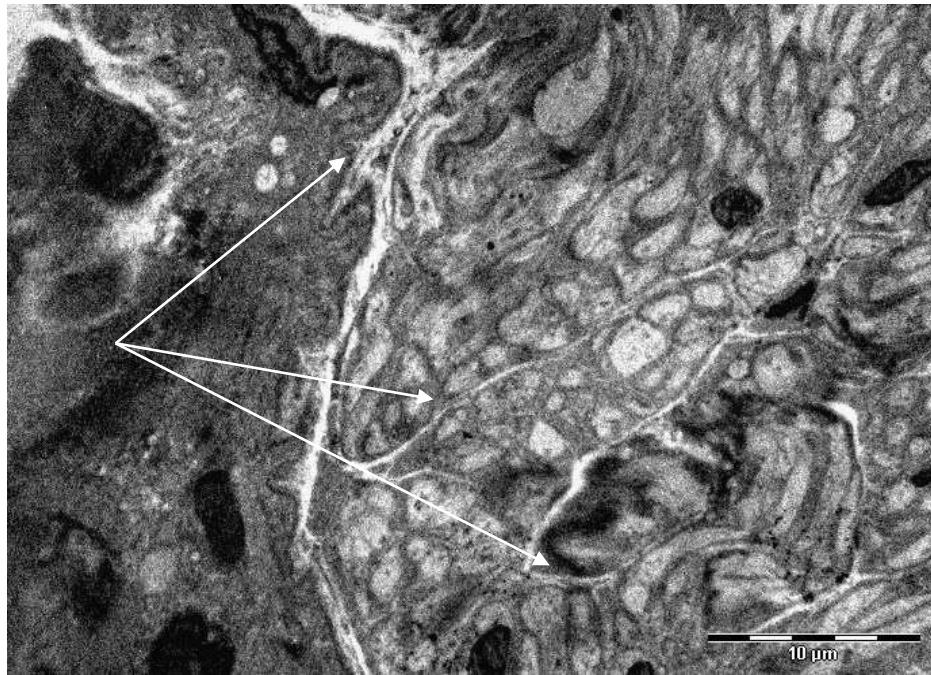


Рисунок 17 – Аномальная сосудистая структура с незавершенной клеточной дифференцировкой (показано стрелками), ув. х 1800

При электронно-микроскопическом исследовании биоптатов вен при II и III степени варикоцеле также были выявлены изменения эндотелиоцитов. Клетки были утолщены, имели неправильную форму в 100 % случаях в обеих группах варикоцеле (рисунок 18 а, б). Эндотелиоциты не контактировали между собой, между ними был виден субэндотелиальный слой. Кроме того, во всех случаях варикоцеле обеих степеней диагностированы деструктивные изменения эндотелиоцитов разной степени выраженности, проявляющиеся разрыхлением цитоплазматической мембраны, уменьшением площади цитоплазмы и ее вакуолизацией, выраженной инвагинацией ядерной мембраны, приводящей к грубой деформации ядер, набуханием митохондрий с деструкцией крист, опустошением митохондриального матрикса (рисунок 18 в, г).

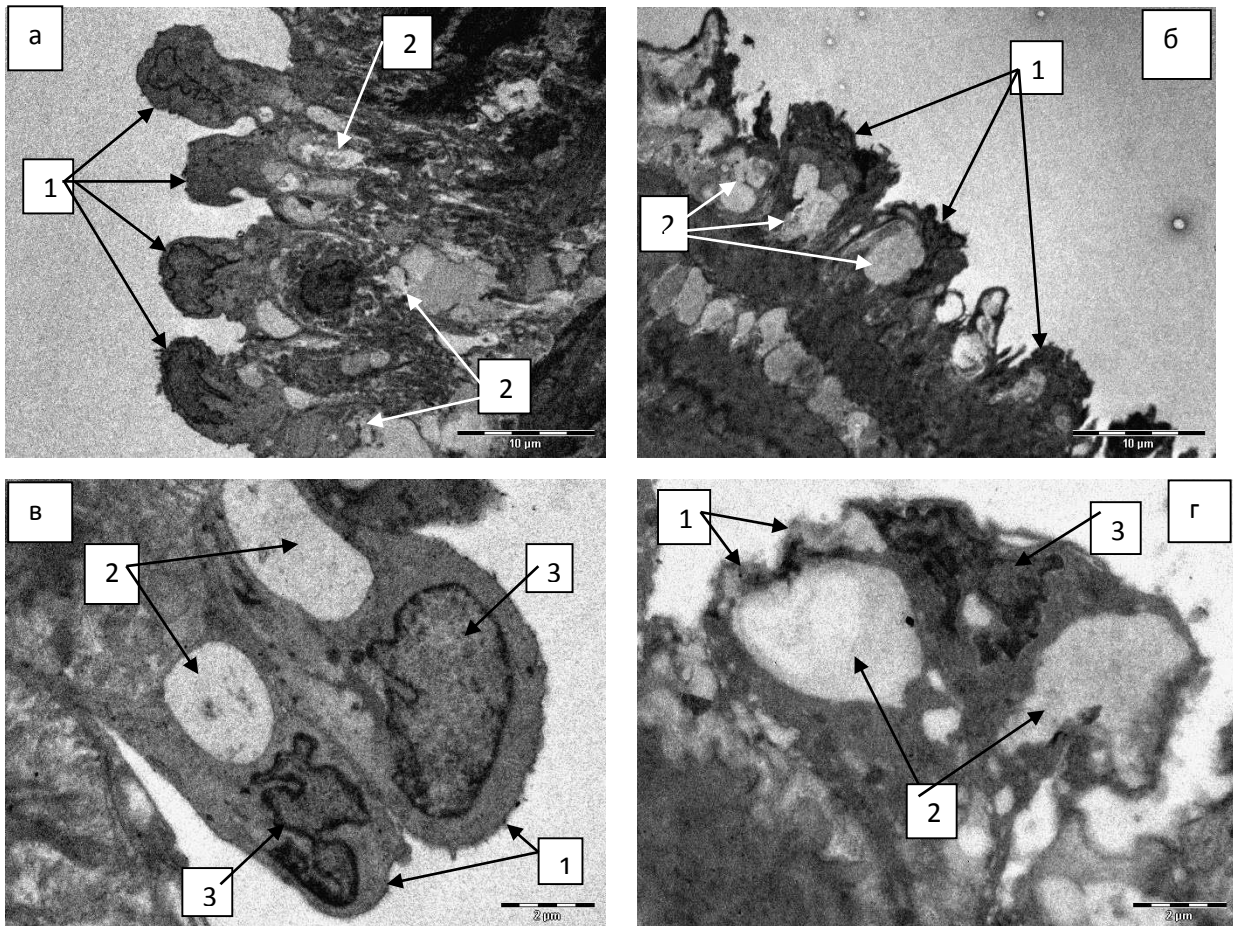


Рисунок 18 - Фрагмент внутреннего слоя семенной вены

Примечание: дезорганизация эндотелиального (1) и субэндотелиального слоев (2), ув. х 3500; а - варикоцеле II ст., б - варикоцеле III ст. Деструктивные изменения эндотелиоцитов: разрыхление цитоплазматической мембраны (1), вакуолизация цитоплазмы (2), грубая деформация и пикноз ядер (3), ув. х 7100; в - варикоцеле II ст., г - варикоцеле III ст.

В 11 случаях (91 %) при II степени и в 25 случаях при III степени варикоцеле был выявлен некроз эндотелиоцитов (рисунок 19). Некроз клеток был определен при уплотнении и осмиофилии цитоплазмы эндотелиоцитов, пикнозе ядер или даже их отсутствии. Плотное прилегание эндотелиоцитов к базальной мембране и субэндотелиальному слою выявлено в четырех случаях каждой группы и составило 32 % и 13 % соответственно. В остальных наблюдениях – восемь случаев (67 %) при II степени варикоцеле и 27 случаев (87 %) при III степени варикоцеле – была отмечена частичная десквамация эндотелиоцитов, когда клетка фиксирована, но между цитоплазматической мембраной и базальной мембраной имеются промежутки, либо клетка фиксирована одним краем и тело клетки ориентировано

в просвет сосуда вертикально или под углом. При ультраструктурном исследовании также диагностирована деэндотелизация внутреннего слоя вен (*рисунок 19*). Десквамация отдельных эндотелиоцитов выявлена в двух случаях (16 %) при II степени варикоцеле и в 10 случаях (32 %) при III степени варикоцеле. Приблизительно равное соотношение деэндотелизированных участков и участков с сохранным эндотелием установлено при II степени варикоцеле в восьми случаях (68 %), а при III степени варикоцеле в семи случаях (23 %). Обширные деэндотелизированные участки с оголением субэндотелиального слоя на большом протяжении были зафиксированы в обеих группах и составили два случая (16 %) и 14 случаев (45 %) соответственно. Адгезия эритроцитов и тромбоцитов к измененному эндотелию и оголенному субэндотелиальному слою была обнаружена в трех случаях (25 %) при II степени варикоцеле и в девяти случаях (29 %) при III степени варикоцеле. На ультраструктурном уровне на внутренней поверхности сосуда также обнаружены валики, образованные за счет неравномерного утолщения субэндотелиального слоя и его дезорганизации. Формирование валиков диагностировано во всех исследованных венах обеих групп (*рисунок 19*). При II степени варикоцеле в трех случаях (25 %) было отмечено наличие одиночных валиков, чередующихся с участками неровной внутренней поверхности сосуда, в восьми случаях (67 %) определено умеренное количество валиков, и в одном случае (8 %) установлено обилие валиков при отсутствии ровной поверхности. При III степени варикоцеле количество таких наблюдений составило: 11 случаев (35 %) - одиночные валики, 12 случаев (39 %) - умеренное количество валиков, и восемь случаев (26 %) - большое количество валиков. В утолщенном субэндотелиальном слое обнаружено разрыхление соединительнотканых волокон, наличие локальных отеков. Между валиками были видны щелевидные углубления, на некоторых участках довольно выраженные. Они были обнаружены в 10 случаях (83 %) при II степени варикоцеле и в 26 случаях (84 %) при III степени варикоцеле. В этих углублениях просматривались сдавленные деформированные эндотелиоциты, а также эритроциты и тромбоциты.

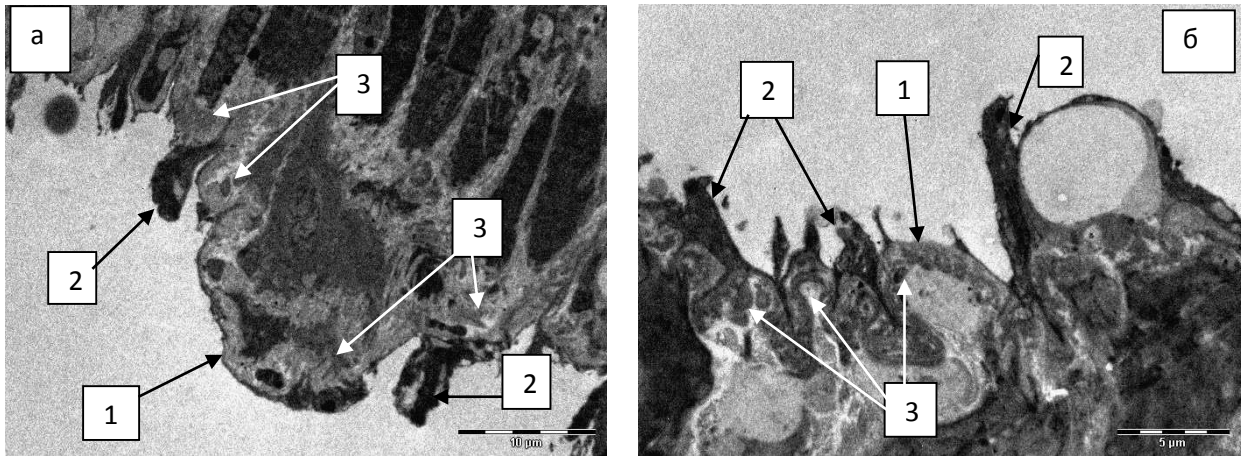


Рисунок 19 - Фрагмент внутреннего слоя семенной вены

Примечание: участки деэндотелизации (1), некроз эндотелиоцитов (2), формирование валиков за счет утолщения субэндотелиального слоя (3), ув. х 1800; а - варикоцеле II ст., б - варикоцеле III ст.

При исследовании медики стенок вен обеих групп просматривались гладкие мышечные клетки вытянутой или полигональной формы. Следует отметить, что в 10 случаях (83 %) при II степени варикоцеле и в 24 случаях (77 %) при III степени варикоцеле выявлено преобладание гладких мышечных клеток, имеющих типичную структуру. При этом были обнаружены единичные вакуолизированные миоциты. В некоторых венах диагностированы выраженные деструктивные изменения гладких мышечных клеток, проявляющиеся наличием крупных, множественных вакуолей, нередко локализованных перинуклеарно, фрагментация ядер, набухание митохондрий и их разрушение (*рисунок 20 а, б*). Такие изменения миоцитов были зафиксированы в двух случаях (16 %) при II степени варикоцеле и в семи случаях (23 %) при III степени варикоцеле. Наличие склеротических изменений в стенке вены обнаружены при II степени варикоцеле в семи случаях (58 %), а при III степени варикоцеле – в 22 случаях (71 %). Склероз расценивался либо как утолщение соединительнотканых прослоек между гладкими мышечными клетками, что составило при II и III степенях варикоцеле четыре случая (57 %) и восемь случаев (36 %) соответственно (*рисунок 20 а, б*). Либо склероз был диагностирован при наличии массивных очагов и тяжелой соединительной ткани (*рисунок 20 в, г*). Такие изменения были выявлены в трех

случаях (43 %) при II степени варикоцеле и в 14 случаях (64 %) при III степени варикоцеле.

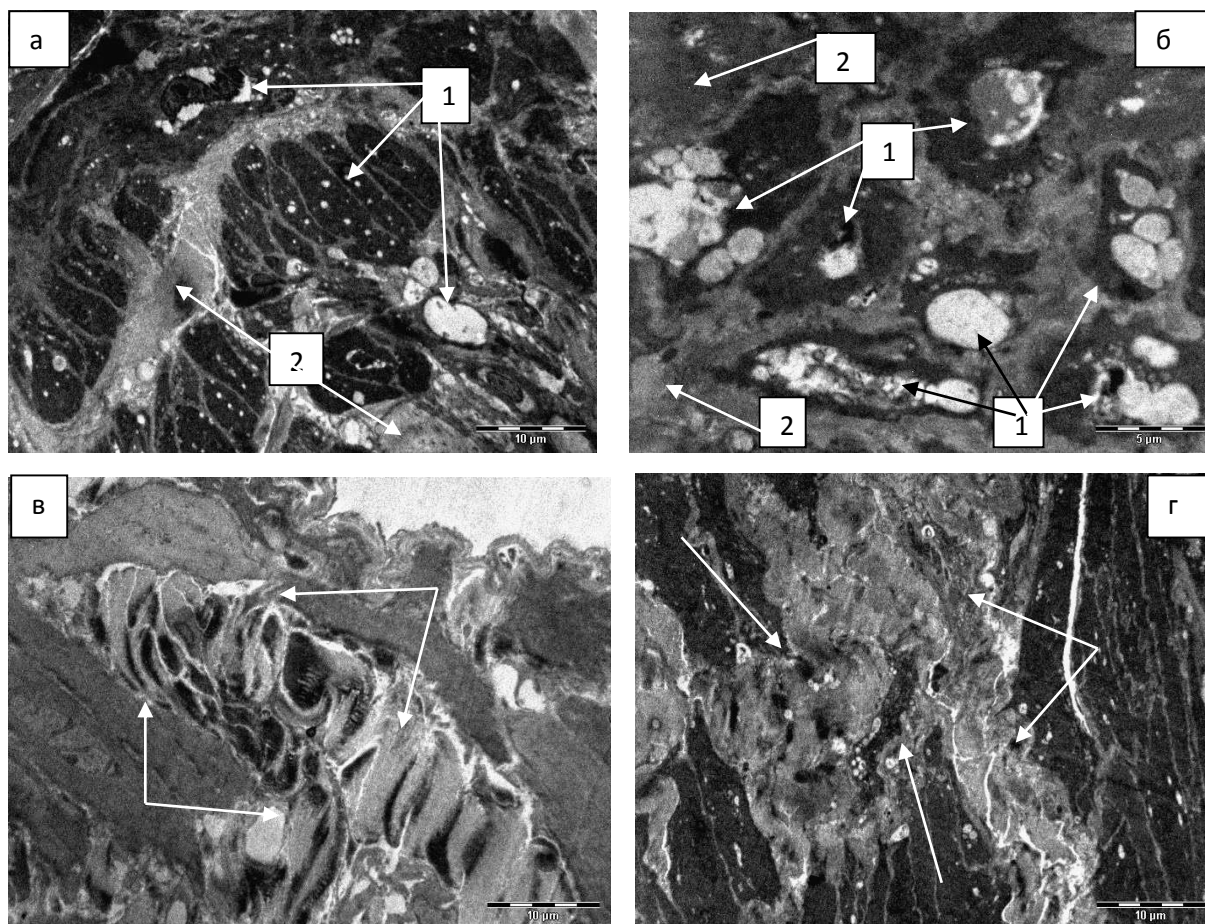


Рисунок 20 - Фрагмент стенки вены

Примечание: вакуолизированные гладкие мышечные клетки с признаками деструкции (1), утолщение соединительнотканых прослоек между миоцитами (2); а - варикоцеле II ст., ув. х1800; б - варикоцеле III ст., ув. х 3500. Массивные очаги склероза в меди (показано стрелками), ув. х 2200; в - варикоцеле II ст., г - варикоцеле III ст.

Кроме того, в стенке сосудов при варикоцеле обнаружены разрыхление и отек в шести случаях (50 %) при II степени и в 20 случаях (65 %) при III степени. Результаты электронно-микроскопического исследования вен при II и III степени варикоцеле представлены в *таблице 35*.

Таблица 35 – Ультраструктурные изменения стенки вен семенного канатика при II и III степени варикоцеле

Изменения стенки вены	II степень варикоцеле n = 12	III степень варикоцеле n = 31	p
Утолщение эндотелиоцитов, неправильная форма клеток	12 (100 %)	31 (100 %)	p -
Деструктивные изменения эндотелиоцитов (разрыхление цитоплазматической мембраны, вакуолизация цитоплазмы, грубая деформация ядер, разрушение митохондрий)	12 (100 %)	31 (100 %)	p -
Некроз эндотелиоцитов	11 (91 %)	25 (80 %)	$p \leq 0,320$
Частичная десквамация эндотелия, вертикальное положение клеток	8 (67 %)	27 (87 %)	$p \leq 0,268$
Небольшое количество участков деэндотелизации внутренней поверхности вены	2 (16 %)	10 (32 %)	$p \leq 0,284$
Равное соотношение количества деэндотелизированных участков и участков с эндотелием	8 (67 %)	7 (23 %)	$p \leq 0,018$
Преобладание количества деэндотелизированных участков	2 (16 %)	14 (45 %)	$p \leq 0,078$
Адгезия тромбоцитов и эритроцитов	3 (25 %)	9 (29 %)	$p \leq 0,724$
Утолщение субэндотелиального слоя, образование валиков	12 (100 %)	31 (100 %)	
- единичные валики	3 (25 %)	11 (35 %)	$p \leq 0,484$
- умеренное количество валиков	8 (67 %)	12 (39 %)	$p \leq 0,191$
- обилие валиков	1 (8 %)	8 (26 %)	$p \leq 0,233$
Щелевидные углубления между валиками	10 (83 %)	26 (84 %)	$p \leq 0,937$
Деструкция гладкомышечных клеток	2 (17 %)	7 (23 %)	$p \leq 0,696$
Склероз меди	7 (58 %)	22 (71 %)	$p \leq 0,668$
- утолщение соединительно-тканых прослоек между миоцитами	4 (57 %)	8 (36 %)	$p \leq 0,335$
- массивные тяжи и очаги соединительной ткани	3 (43 %)	14 (64 %)	$p \leq 0,178$
Разрыхление и отек меди	6 (50 %)	20 (65 %)	$p \leq 0,599$

Примечание: статистически значимые различия, $p \leq 0,05$.

Из данных таблицы следует, что при II степени варикоцеле статистически значимо чаще выявлены сосуды с равным соотношением количества дезэндотелизированных участков и участков с эндотелием, а при III степени варикоцеле таких сосудов обнаружено меньше, выявлено преобладание дезэндотелизированных участков. На ультраструктурном уровне частота встречаемости изменений стенки вены также приблизительно одинакова при варикоцеле обеих степеней.

В ходе исследования у пациентов обеих групп установлены корреляционные взаимосвязи, наиболее сильные из которых представлены в *таблицах 36, 37*.

Таблица 36 – Корреляционные взаимосвязи в группе сравнения

Прямые корреляционные взаимосвязи		r
IL-1 β (сыв.)	IL-6 (сыв.)	0,976096
IL-1 β (сыв.)	TNF α (сыв.)	0,801173
IL-4 (сыв.)	TNF α (сыв.)	0,538403
IL-8 (сыв.)	VEGF (сыв.)	0,79369
IL-1 β (сыв.)	IL-10 (эяк.)	0,789813
IL-6 (эяк.)	TNF α (эяк.)	0,586552
Нормальные сперматозоиды	Категория подвижности «А»	0,761555
Категория подвижности «D»	IL-1 β (эяк.)	0,766866
Обратные корреляционные взаимосвязи		
IL-8 (сыв.)	TNF α (эяк.)	0,96473
VEGF (сыв.)	IL-6 (эяк.)	0,78603
VEGF (сыв.)	TNF α (эяк.)	0,866615
Нормальные сперматозоиды	Дефект головки	0,7908
Вязкость	Категория подвижности «А»	0,5556
Категория подвижности «А+В»	IL-1 β (эяк.)	0,70936
Категория подвижности «А+В+С»	IL-1 β (эяк.)	0,76687

Таблица 37 – Корреляционные взаимосвязи в основной группе

Прямые корреляционные взаимосвязи		r
Нормальные сперматозоиды	Категория подвижности «А»	0,542359
IL-4 (сыв.)	IL-8 (эяк.)	0,531601
IL-4 (сыв.)	TNF α (эяк.)	0,502768
IL-1 β (эяк.)	IL-6 (эяк.)	0,989184
IL-4 (эяк.)	IL-10 (эяк.)	0,61749
IL-8 (эяк.)	TNF α (эяк.)	0,589063
IL-10 (эяк.)	TNF α (эяк.)	0,518578
Обратные корреляционные взаимосвязи		
Нормальные сперматозоиды	Дефект головки	0,53904
Категория подвижности «D»	Категория подвижности «А»	0,62691
Категория подвижности «D»	Категория подвижности «B»	0,73526
Категория подвижности «D»	Категория подвижности «A+B»	0,80096
Категория подвижности «D»	Категория подвижности «A+B+C»	0,90092

В группе сравнения наиболее сильные прямые корреляционные взаимосвязи выявлены между концентрациями провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на системном и локальном уровне. Также прямые корреляционные взаимосвязи зафиксированы между нормальными сперматозоидами и прогрессивной подвижностью сперматозоидов, неподвижными сперматозоидами и провоспалительными цитокинами на локальном уровне.

Обратные корреляционные связи в группе сравнения зафиксированы между провоспалительными цитокинами и фактором роста эндотелиоцитов на

системном уровне и провоспалительными цитокинами на локальном уровне. Кроме того, обратные корреляционные связи выявлены между нормальными сперматозоидами и сперматозоидами с дефектами головок, вязкостью и активным поступательным движением, сперматозоидами с прогрессивной подвижностью и противовоспалительными цитокинами на локальном уровне.

В основной группе наиболее значимые корреляционные связи установлены между противовоспалительными цитокинами на системном уровне и про-и противовоспалительными цитокинами на локальном уровне. Как и в группе сравнения, в основной группе выявлены обратные корреляционные взаимосвязи между нормальными сперматозоидами и сперматозоидами с дефектами головки и между неподвижными сперматозоидами и сперматозоидами с поступательной подвижностью.

Резюме

Таким образом, полученные результаты показали, что у подростков с варикоцеле после его оперативной коррекции в период с 14 до 17 лет уровни антиспермальных антител, значения гормонов, показатели углеводного и липидного обменов находятся в пределах допустимых значений и референтных интервалов, при этом имеющиеся статистически значимые различия не могут рассматриваться как патологические. Установлен более высокий уровень цитокинов в сыворотке крови и эякуляте у подростков основной группы относительно группы сравнения, но определяемая степень повышения не может свидетельствовать о развитии воспалительной реакции на системном и локальном уровне. В 95 % случаев при варикоцеле не обнаружено изменений кариотипа, делеций в AZF-регионе Y-хромосомы и мутаций гена CFTR, а выявленные изменения не сопровождаются нарушениями сперматогенеза. При выполнении спермограммы и электронно-микроскопического исследования сперматозоидов у подростков с варикоцеле преобладающим заключением является нормозооспермия, случаи астенозооспермии определены при наличии в эякуляте

условно-патогенной микрофлоры. При морфологическом исследовании вен семенного канатика при варикоцеле выявлены изменения эндотелия и стенки сосудов, обусловленные компенсаторными механизмами в ответ на повышенную гемодинамическую нагрузку.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ 3 ГЛАВЫ

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).

Пичугова, С.В. Динамика показателей цитокинового статуса сыворотки крови у подростков с варикоцеле / С.В. Пичугова, Ю.Г. Лагерева, 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

и м 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, К-2).

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-

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

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, К-2; Scopus).

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, К-2; Scopus).

–

Т

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

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*).

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*).

. Роль антиспермальных антител в формировании инфертильности 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*).

. 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)

. 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*).

. 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*).

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, K-2*).

Пичугова, С.В. Влияние варикоцеле на показатели спермограммы в подростковом возрасте // *Репродуктивное здоровье детей и подростков*. – 2022. –Т. 18, № 1. – С.73-

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.

ГЛАВА 4 – ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ. ОЦЕНКА РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ ПОДРОСТКОВ ПОСЛЕ ВАРИКОЦЕЛЭКТОМИИ В ПЕРИОД С 14 ДО 17 ЛЕТ

Адекватная оценка репродуктивного здоровья подростков при варикоцеле невозможна без анализа всех факторов, приводящих к развитию бесплодия, возникающих не только в результате нарушения внутритестикулярной гемодинамики, но и патогенетически не связанных с варикоцеле.

В качестве основных механизмов патогенеза нарушения репродуктивной функции при варикоцеле рассматриваются венозный застой и обусловленные им ишемия, гипоксия и гипертермия тестикулярной ткани, оказывающие негативное действие на клетки Сертоли (нарушение гематотестикулярного барьера), клетки Лейдига (нарушение эндокринной функции) и сперматогенный эпителий (нарушение сперматогенеза).

Варикоцеле считается фактором, нарушающим иммунологическую привилегированность тестикул, в результате чего развиваются аутоиммунные реакции против сперматозоидов с образованием АСАТ, которые обнаруживаются в сыворотке крови и жидкостях репродуктивного тракта, являясь маркерами иммунологической формы бесплодия.

Проведенное исследование показало, что ни у одного подростка из всех обследуемых не диагностировано повышения уровня АСАТ в сыворотке крови выше допустимых методикой значений.

Установлена различная динамика показателя для пациентов основной группы и группы сравнения. Наименьший уровень АСАТ зафиксирован у подростков в возрасте 14 лет в обеих группах. Далее у подростков группы сравнения происходило нарастание показателя, наибольшие значения уровня АСАТ отмечены в возрасте 15-16 лет с последующим уменьшением значений в 17 лет. У пациентов с варикоцеле также происходило нарастание уровня АСАТ,

который достигал максимальных величин в возрасте 17 лет, но без тенденции к снижению.

Плотные контакты между клетками Сертоли, формирующими гематотестикулярный барьер, образуются тогда, когда первые зародышевые клетки герминативного эпителия вступают в фазу мейоза, а у человека этот период приходится, преимущественно, на 15 лет и связан с началом повышения синтеза тестостерона [191]. Кроме того, существует мнение, что проникновение небольшого количества спермальных антигенов через гематотестикулярный барьер имеет физиологическое значение – индукция иммунологической толерантности к антигенам гамет [356]. Основу гематотестикулярного барьера составляют клетки Сертоли, которые, располагаясь по длине семенного канальца, обеспечивают относительную изоляцию процессов сперматогенеза [216, 283]. В период полового созревания, когда половые клетки завершают свой первый сперматогенный цикл, дифференцируясь в зрелые сперматозоиды, устанавливается иммунная компетентность яичек [218, 226]. В этот период синтезируется большое количество новых поверхностных молекул, которые вместе с развивающимися сперматозоидами (аутоантигенами) передаются иммунной системе. Кроме того, гематотестикулярный барьер изолирует большую часть, но не все аутоантигены, поскольку сперма должна проходить и через дистальные отделы мужского репродуктивного тракта, не имеющих четких границ, таких как клетки Сертоли [216, 367]. Молодые сперматоциты и сперматогонии располагаются за пределами гематотестикулярного барьера и их антигены могут быть доступны для циркулирующих антител и лимфоцитов [216]. Во время сперматогенеза специфические антигены мейоза экспрессируются на клетках, и на мембранах сперматозоидов появляется до 20 дополнительных антигенов во время прохождения и созревания в придатках яичка [216, 283]. Выявленная динамика секреции АСАТ в полной мере отражает начало перестройки гематотестикулярного барьера, сопровождающееся выраженным повышением АСАТ в 15 лет. По мере созревания сперматозоидов, экспрессии на поверхности клеток новых антигенов и презентации их иммунокомпетентным клеткам происходит нарастание уровня

АСАТ. У подростков без варикоцеле наблюдается установление функции гематотестикулярного барьера, о чем может свидетельствовать снижение уровня АСАТ в 17 лет, вероятно, обусловленное уменьшением их продукции и элиминацией имеющихся антител. У подростков с варикоцеле не зафиксировано снижение уровня АСАТ в 17 лет, возможно, это связано с тем, что процесс формирования гематотестикулярного барьера у этой группы обследуемых не уложился во временные рамки исследования и завершится несколько позже. Поскольку осталось неизвестным, произойдет снижение уровня АСАТ в основной группе, как у подростков из группы сравнения или, напротив, их уровень будет увеличиваться, а также, несмотря на то, что уровни АСАТ в сыворотке крови не превысили нормативные показатели, подростки с варикоцеле могут представлять группу риска развития аутоиммунной формы бесплодия, например, при сопутствующих воспалительных процессах уrogenитального тракта.

Функция гематотестикулярного барьера во многом обеспечена множеством процессов, выполняемых клетками Сертоли, таким как высвобождение специфического иммунопротекторного вещества, подавляющего бластную трансформацию лимфоцитов и предотвращающего лизис сперматозоидов [283]. Фагоцитарная активность клеток Сертоли заключается в деградации сперматозоидов и их антигенных компонентов, обычно без презентации антигена. Клетки Сертоли взаимодействуют с сингенными Т-лимфоцитами, чтобы установить иммунную привилегию яичек, и это взаимодействие ограничено HLA. Они препятствуют проникновению и выживанию Т-эффекторов, облегчая функционирование Т-регуляторов [153, 283, 319]. Таким образом, отсутствие патологического повышения уровня АСАТ в сыворотке крови при варикоцеле может косвенно свидетельствовать о том, что функция клеток Сертоли, а, следовательно, и гематотестикулярного барьера не нарушена предполагаемым ишемическим повреждением тестикулярной ткани.

Сравнение уровней АСАТ в сыворотке крови у пациентов с II и III степенью варикоцеле не выявило статистически значимых различий. Это, вероятно, связано с тем, что степень варикоцеле отражает клинические проявления заболевания, а не

тяжесть повреждения тестикулярной ткани и, в том числе, гематотестикулярного барьера.

Не установлено статистически значимой разницы в уровне АСАТ у подростков в возрасте 14 лет, которым исследование проводилось непосредственно перед операцией, и подростков, у которых операция была в анамнезе. Дальнейшее исследование показало, что не происходит нарастание показателей АСАТ выше допустимого значения не только после оперативного вмешательства, но в отдаленном послеоперационном периоде. Можно предположить, что оперативное вмешательство на венах семенного канатика не привело к иницированию аутоиммунных реакций.

В основной группе зафиксировано всего 6 (6 %) пациентов с повышенным титром АСАТ в семенной жидкости, в то время как в группе сравнения таких пациентов не выявлено. Это может свидетельствовать о том, что в целом не формируется местная аутоиммунная реакция к сперматозоидам при варикоцеле. Тщательного исследования требуют случаи выраженного повышения АСАТ в эякуляте с целью исключения воспалительных процессов в репродуктивном тракте, поскольку именно они являются наиболее частой причиной формирования иммунологической формы infertility. Результаты исследования продемонстрировали, что в пубертатном периоде после варикоцелеэктомии формирования аутоиммунной формы бесплодия не происходит.

Цитокины участвуют в самых разнообразных клеточных процессах, начиная от воспаления и заканчивая повреждением и регенерацией тканей, действуя по принципу сети, проявляя синергизм, что особенно характерно для провоспалительных цитокинов [79, 109]. Эндотелиальные клетки при сосудистых заболеваниях имеют провоспалительный фенотип и могут вносить вклад в развитие воспаления [5].

Все определяемые в исследовании провоспалительные и противовоспалительные цитокины в той или иной мере оказывают свое действие при варикозной флебопатии, и их уровень был оценен в качестве маркера воспалительной реакции в сосудистой стенке.

Продукция эндотелиальными клетками IL-1 β напрямую связана с гемодинамическим стрессом в ответ на травму и способствует стимуляции адгезии лейкоцитов к эндотелиальным клеткам, оказывая мощное действие на развитие воспалительного процесса сосудов, стимулирует экспрессию IL-6, TNF α [22, 82, 158, 243]. Тканевая гипоксия, повышенный уровень IL-1 β , TNF α способствуют увеличению синтеза IL-6, активно вовлеченного в патогенез гипертензии, который продуцируется эндотелиальными клетками при механическом растяжении и эндотелиальной дисфункции и активно участвует в регуляции острофазного ответа [82, 109]. Полученные в результате исследования данные показывают, что при варикоцеле, несмотря на выявленные существенные патологические изменения эндотелиоцитов, не зафиксировано повышение уровней IL-1 β и IL-6, ожидаемо наиболее активно продуцируемых при эндотелиальной дисфункции. Возможно, это связано с тем, что варикоцеле не является системным сосудистым заболеванием и площадь поврежденного участка мала относительно общей площади кровеносного русла, а, следовательно, не происходит значительной секреции цитокинов. Кроме того, при варикоцеле не происходит резкого сужения просвета сосуда, процесс формируется постепенно с возможностью адаптации сосуда к измененному кровотоку без секреции острофазных цитокинов. Так, например, хемокин IL-8 синтезируется активированными эндотелиальными клетками в ответ на гипоксию несколько позднее остальных цитокинов, но является основным цитокином, стимулирующим трансэндотелиальную миграцию лейкоцитов в очаг воспаления, является синергистом IL-1 β , TNF α , инициируя и поддерживая воспаление [28, 82, 86]. Единственным цитокином, чей уровень статистически значимо сохраняется более высоким по сравнению с группой сравнения на протяжении всего исследования, является IL-8. Возможно, при постепенном формировании варикоцеле повышение уровня IL-8 отражает формирование хронического воспаления, проявления которого уменьшаются после варикоцелеэктомии, поскольку зафиксировано статистически значимое его снижение. Не установлено статистически значимых различий в уровне IL-8 в

зависимости от степени варикоцеле, что, возможно, связано со сходными морфологическими изменениями стенки вены при обеих степенях варикоцеле.

TNF α активно секретируется в ответ на травму, может повреждать эндотелиальные клетки, способствует продукции IL-1 β , IL-6, IL-8 и является их синергистом, инициирует воспалительный каскад внутри сосудистой стенки и способствует ее альтерации, является универсальным стимулятором для эндотелиальных клеток, усиливая секрецию ими цитокинов [14, 42, 82, 146, 158]. Более высокие уровни TNF α зафиксированы у подростков с варикоцеле, но не отмечено значительного повышения показателей и не выявлено статистически значимых отличий от показателей подростков группы сравнения, что могло бы свидетельствовать в пользу наличия провоспалительного статуса сосудистой стенки при варикоцеле. Не установлено статистически значимой разницы в уровне этого показателя в зависимости от степени варикоцеле и давности оперативной коррекции.

IL-4 ингибирует выработку провоспалительных цитокинов, способствует нормализации функции эндотелиоцитов, уменьшает секрецию IL-1 β [80, 109]. IL-10 является основным противовоспалительным цитокином, продуцируемым в том числе эндотелиальными клетками, активно подавляет продукцию противовоспалительных цитокинов и ослабляет их негативный эффект, прекращая воспалительную реакцию, отмечено многократное увеличение его уровня в ответ на повышение концентрации провоспалительных цитокинов, способен предотвращать формирование эндотелиальной дисфункции [14, 22, 86, 109, 163, 243]. Из исследуемых противовоспалительных цитокинов для IL-4 не зафиксировано ни повышение его уровня, ни статистически значимой разницы не только между основной группой и группой сравнения, но и в зависимости от степени варикоцеле и давности оперативной коррекции. Для IL-10 зафиксировано незначительное повышение, что вероятнее всего также не отражает выраженного противовоспалительного эффекта. Не установлено статистически значимой разницы в уровне IL-10 в зависимости от степени варикоцеле и давности оперативной коррекции.

Сравнение полученных результатов в зависимости от степени варикоцеле было предпринято в связи с тем, что при III степени варикоцеле предполагаются более выраженные изменения стенки вен, когда вены определяются визуально у пациента в ортостазе. Полученные данные показывают, что не установлено статистически значимых различий в уровнях цитокинов между группами пациентов с II и III степенью варикоцеле, также, как и в морфологических изменениях стенки вены. 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. Хирургическое вмешательство (варикоцелэктомия) вызывает нарушение целостности сосудистой стенки, сопровождающееся повреждением эндотелиоцитов, активацией лейкоцитов и макрофагов, приводя к развитию воспалительной реакции [320]. Сопоставление уровня цитокинов в сыворотке крови до и после оперативной коррекции было выполнено по нескольким причинам. Во-первых, была предпринята попытка определить, существует ли разница в уровне цитокинов и, соответственно, в выраженности воспалительного процесса стенки сосудов семенного канатика у подростков, которым еще не проводилось оперативное лечение, а, значит, флебопатия присутствует. Во-вторых, провоцирует ли травма сосуда во время операции воспалительную реакцию, сопровождающуюся повышением уровня цитокинов. Как следует из полученных данных, у пациентов, обследованных до варикоцелэктомии статистически значимо повышен уровень провоспалительных цитокинов, таких как IL-8 на протяжении всего исследования и TNF α , но только в возрасте 14 лет у подростков непосредственно перед операцией. В уровнях остальных цитокинов статистически значимой разницы в зависимости от оперативной коррекции не выявлено. Известно, что действие цитокинов кратковременно и оценивать их уровень с ответ на оперативное вмешательство в отдаленный промежуток не совсем целесообразно, но по результатам исследования видно, что у пациентов с недавним оперативным вмешательством сохраняются статистически значимо более высокие уровни IL-8. Возможно, это связано с еще не завершившейся адаптацией к

измененному в результате операции кровотоку, поскольку у пациентов с варикоцелэктомией в анамнезе этот период был более продолжительным.

С целью прогноза ремоделирования вен семенного канатика при варикоцеле была выполнена оценка динамики уровня VEGF – фактора роста эндотелия сосудов, регулирующего ангиогенез и морфологическую перестройку стенки сосуда. VEGF является проангиогенным фактором, модулирует функцию эндотелия, увеличивает проницаемость функционально зрелых сосудов, способствует венозной мальформации [5, 46, 153, 208, 260, 261]. Прогрессирующее повышенное давление способствует запуску синтеза эндотелиальными клетками VEGF, который стимулирует пролиферацию гладких мышечных клеток сосудов и дальнейшее ремоделирование сосудов [115, 181]. Кроме того, проангиогенным действием обладает и ряд цитокинов, таких как IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α [14, 82, 109, 260]. Выбор VEGF обусловлен пробным анализом для определения маркера предполагаемого ремоделирования сосуда при варикоцеле. Как показало проведенное исследование, уровень VEGF сохранялся приблизительно одинаковым во всех обследуемых группах во все возрастные периоды и не отличался в зависимости от степени варикоцеле и давности варикоцелэктомии. Возможно, что процесс ангиогенеза не характерен для варикоцеле, поскольку он не выявлен при морфологическом исследовании вен и не установлено увеличение уровня фактора роста эндотелия. Сохраняющийся стабильный уровень всех цитокинов на протяжении исследования может, очевидно, расцениваться как маркер отсутствия прогрессирования эндотелиальной дисфункции. Выявленные изменения уровней цитокинов не дают убедительных данных о развитии провоспалительного статуса сосудов при варикоцеле, несмотря на выраженные гистологические и ультраструктурные изменения стенки вены.

Из обзора литературы следует, что были неоднократно предприняты попытки оценки цитокинового профиля семенной плазмы у мужчин при варикоцеле для определения вовлеченности цитокинов в нарушение репродуктивной функции при этой патологии [52, 164, 225, 227, 280, 282, 284, 309].

У подростков цитокиновый профиль эякулята в настоящее время практически не исследован и требует изучения.

Сопоставление уровней цитокинов в эякуляте у подростков основной группы и группы сравнения показало, что статистически значимо повышены уровни провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF α , а из противовоспалительных цитокинов - IL-10.

В семенниках IL-1 β в физиологических условиях регулирует сперматогенез посредством паракринной и аутокринной экспрессии, способствует созреванию сперматозоидов, пролиферации герминативного эпителия, клеток Сертоли, клеток Лейдига [210, 361]. Но повышение уровня IL-1 β в эякуляте является лабораторным показателем статуса воспаления, поскольку он продуцируется моноцитами и макрофагами и вовлекается в воспалительный процесс, стимулируя выработку IL-6, считается маркером аутовоспаления и значительно повышается у пациентов с варикоцеле и бесплодием [27, 163, 210, 361].

Цитокин IL-6 рассматривается в качестве одного из наиболее важных факторов регуляции защитных реакций организма, включая воспалительный процесс. Он стимулирует развитие и функционирование Т- и В-лимфоцитов, индуцируя синтез иммуноглобулинов секреторного и циркуляторного типов, включая аутоантитела [27]. IL-6 характеризуется быстрой и кратковременной выработкой в ответ на повреждение тканей, но длительное нарушение регуляции его синтеза играет патологическую роль при хроническом воспалительном процессе, характерном для варикоцеле и аутоиммунных реакциях [27, 361].

В отличие от остальных цитокинов, TNF α способен действовать на андрогенный рецептор, регулирующий активность синтеза тестостерона, способствует выживанию клеток во время сперматогенеза, оказывает непосредственное влияние на подвижность сперматозоидов [164]. TNF α поддерживает репаративный статус в урогенитальном тракте здоровых мужчин, выживание герминативных клеток в семенной жидкости, регулирует проницаемость гематотестикулярного барьера [90]. Вместе с тем высокая концентрация TNF α в эякуляте отражает наличие воспалительного процесса,

изменяет функцию митохондрий, увеличивая продукцию активных форм кислорода и приводя к снижению подвижности сперматозоидов, ингибирует акросомальную реакцию, усиливает апоптоз сперматозоидов [27, 280, 361].

Из исследуемых противовоспалительных цитокинов в эякуляте статистически значимо повышен только уровень IL-10 у подростков с варикоцеле. Широко известна роль IL-10 в качестве цитокина, подавляющего продукцию провоспалительных цитокинов и прекращающего воспалительную реакцию [163]. Цитокин IL-10 угнетает клеточный тип иммунного ответа, ингибирует продукцию активных форм кислорода, поддерживает жизнеспособность сперматозоидов, обеспечивая иммуносупрессивный статус семенной жидкости [27].

Оценивая уровни цитокинов в эякуляте при II и III степени варикоцеле, статистически значимых различий между группами не было установлено.

У подростков, которым была выполнена более ранняя оперативная коррекция варикоцеле, установлены статистически значимо более высокие уровни провоспалительных цитокинов в семенной жидкости, следовательно, сохраняется местный воспалительный процесс уrogenитального тракта, который может негативно отразиться на параметрах эякулята. Таким образом, анализ полученных данных позволил определить, что отличительным признаком локального цитокинового профиля в эякуляте у подростков с варикоцеле является усиленная продукция провоспалительных медиаторов IL-1 β , IL-6, TNF α , а также IL-10, реализующего противовоспалительный ответ. Проведенное исследование показало вовлеченность иммунной системы в воспалительный процесс при варикоцеле. Известно, что 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 [12]. Гипоксия тестикулярной ткани также может выступать в качестве промотора хронического воспаления, поскольку способствует индукции транскрипции генов провоспалительных цитокинов, необходимых для адаптации

тестикул к неблагоприятным условиям. Активация иммунной системы на локальном уровне может служить пусковым механизмом повреждения микроокружения в яичке, приводить к нарушению сперматогенеза, поскольку провоспалительные цитокины являются не только регуляторами физиологических процессов в тестикулярной ткани, но и наиболее агрессивными медиаторами воспалительной реакции по отношению к иммунопривелигированным клеткам репродуктивной системы. Не исключено, что повышение уровня цитокинов может быть связано с более часто диагностируемой у подростков основной группы бактериоспермией. В целом, провоспалительные цитокины могут являться более чувствительным маркером повреждения тестикулярной ткани при варикоцеле, после варикоцелэктомии, но у подростков эти показатели практически не исследованы, и этот вопрос требует дальнейшего изучения. С другой стороны, поскольку не зафиксировано резко выраженного повышения уровня цитокинов в эякуляте, который мог бы свидетельствовать об активном воспалительном процессе, можно предположить активацию адаптационных механизмов в ответ на имеющееся варикоцеле, последующую варикоцелэктомию и реабилитационный период, происходящие на фоне пубертатного периода и активации сперматогенеза.

Таким образом, повышенный уровень провоспалительных цитокинов в эякуляте может не только свидетельствовать о местном воспалительном процессе в урогенитальном тракте у подростков с варикоцеле, но и выступать в качестве показателя активного пубертатного периода, выполняя роль регулятора сперматогенеза.

Проведенное исследование показало отсутствие избыточного веса, гипергликемии, дислипидемии у подростков, что является, в целом, ожидаемым результатом в молодом возрасте. Более характерным для подростков 14,15 лет является недостаточность массы тела. Низкий ИМТ рассматривается не только как предиктор развития варикоцеле, но и в качестве угрозы его рецидива после оперативной коррекции [240, 355]. Этот возрастной период характеризуется высокими темпами роста, на фоне которых отмечается недостаточность мышечного каркаса [55]. Известно, что левая яичковая вена впадает в левую

почечную вену, подвергающуюся компрессии аортой и верхней брыжеечной артерией [259]. В период активного роста подростков в 14-15 лет происходит и ускорение роста сосудов, что сопровождается увеличением нагрузки на них, повышением гидростатического давления. В таких условиях происходит формирование аномальной извитости вен и развитие варикоцеле именно в этот возрастной период. У подростков, особенно основной группы, чаще зафиксирован ИМТ ниже нормы, а также отмечалась более низкая средняя величина ИМТ во все возрастные периоды. У лиц с дефицитом массы тела может развиваться гиперметаболический синдром, сопровождающийся повышением уровня цитокинов в сыворотке крови, что наблюдается у подростков с варикоцеле. С возрастом рост замедляется, под действием тестостерона нарастает мышечная масса, вес увеличивается. Это подтверждалось показателями ИМТ, которые к 16-17 годам смещались в диапазон нормальных величин. В целом, период интенсивного роста довольно непродолжителен, с возрастом нивелируется негативное влияние дефицита ИМТ на компрессию левой почечной вены, отсутствуют признаки провоспалительного статуса сосудов семенного канатика, что может расцениваться в качестве благоприятного прогностического фактора в замедлении прогрессирования варикоцеле.

Статистически значимо более низкий ИМТ при III степени варикоцеле и большее количество подростков с дефицитом массы тела указывало лишь на более выраженные клинические проявления варикоцеле, что не сопровождалось существенной разницей в результатах исследуемых показателей в зависимости от степени варикоцеле.

Несмотря на то, что лишь у нескольких человек в процессе обследования была установлена повышенная масса тела, а признаки метаболического синдрома не были диагностированы, тем не менее, в связи с ожидаемым развитием ожирения с возрастом, необходимо сделать акцент на профилактических стратегиях этих состояний уже с детства, хотя увеличение жировой ткани между верхней брыжеечной артерией и аортой, по мнению ряда авторов, выполнило бы протекторную функцию от избыточного давления на левую почечную вену [149,

354]. Отсутствие ожирения, репродуктивно значимой эндокринопатии, у обследуемых подростков позволит исключить возможность снижения уровня тестостерона в этот возрастной период за счет его повышенной ароматизации в жировой ткани в эстрадиол.

Таким образом, проведенное исследование позволило выявить, что для подростков не характерно наличие признаков метаболического синдрома, которые не всегда бывают очевидны клинически и могут развиваться при нормальной массе тела, часто диагностируются случайно и могли бы усугублять имеющийся при варикоцеле энергодефицит в клетках герминативного эпителия, способствуя нарушению репродуктивной функции. Результаты исследования позволили исключить влияние метаболических нарушений на репродуктивный потенциал подростков с варикоцеле в послеоперационном периоде с 14 до 17 лет.

При оценке репродуктивного потенциала мужчин необходимо исследовать уровень ФСГ, ЛГ, эстрадиола и, конечно, основного андрогена – тестостерона. Под действием ЛГ стимулируется синтез тестостерона клетками Лейдига, а ФСГ контролирует сперматогенез, воздействуя на клетки Сертоли. Кроме того, для сперматогенеза важен эффект тестостерона непосредственно в самом яичке [55]. Для инициации качественно и количественно нормального сперматогенеза в период полового созревания, а также его поддержания в дальнейшем, необходимо синергичное действие тестостерона, ФСГ и ЛГ [55]. В дальнейшем возрастающий уровень тестостерона ингибирует синтез ФСГ и ЛГ, а его избыток ароматизируется в эстрадиол.

При оценке значений уровней гонадотропных гормонов (ФСГ, ЛГ) у подростков основной группы и группы сравнения установлено, что их средние значения находились в пределах референтного интервала и не подвергались колебаниям на протяжении всего исследования. Это позволило исключить наличие первичной эндокринной недостаточности (гипогонадотропного гипогонадизма) у подростков, которая могла бы привести к снижению синтеза тестостерона помимо предполагаемого ишемического повреждения клеток Лейдига при варикоцеле.

Исследование уровня тестостерона у подростков обеих групп также продемонстрировало, что средние значения укладывались в пределы референтного интервала в течение всего периода наблюдения и сопровождалась статистически значимо более высокими значениями у подростков без варикоцеле. Эта разница отчетливо начинала прослеживаться с 14 лет. В целом, динамика уровня тестостерона показала активный пубертатный период, сопровождающийся прогрессирующим нарастанием уровня тестостерона за период от 14 до 17 лет с характерным резким подъемом в 15 лет в группе сравнения и более сглаженным в основной группе. Повышенный синтез тестостерона в период полового созревания приводит к ароматизации его в эстрадиол, которая происходит не только в жировой ткани, но в активно развивающейся в этот период мышечной ткани. Об этом свидетельствовал сохраняющийся повышенный уровень эстрадиола за весь период исследования.

Оценка частоты встречаемости отклонения уровней гормонов от значений референтного интервала как в сторону повышения, так и в сторону понижения показателей, также позволила отразить динамику, характерную для пубертатного периода. Выявлено уменьшение количества отклонений ниже референтного интервала по мере взросления обследуемых и нарастания отклонений, превышающих референтный интервал, зафиксированных для тестостерона и эстрадиола.

Динамическое наблюдение за уровнем гормонов и частотой их отклонений от нормальных величин позволило выявить количественно стабильную группу с уровнем ФСГ на нижней границе нормы, сохраняющимся на протяжении всего исследования. Возможно, в этой группе нельзя исключить признаки первичного гипогонадизма, маскируемого пубертатным периодом, сопровождающимся подъемом уровня всех гормонов.

Одним из критериев оценки степени варикоцеле является степень расширения вен семенного канатика. Можно предположить, что чем значительнее извитость вен, тем больше изменения в гемодинамике яичка и тем значительнее изменения будут в ткани тестикулы. Застой венозной крови в извитых венах

семенного канатика при варикоцеле и повышение уровня эстрадиола вызывает состояние гормонозависимой флебопатии, что, возможно, приводит к более выраженным клиническим проявлениям при III степени варикоцеле [35]. Кроме того, гиперэстрогемия приводит к снижению синтеза ФСГ и ЛГ, замедляя формирование нормального сперматогенеза [90]. В связи с этим была проведена оценка уровня гормонов у пациентов с II и III степенями варикоцеле. Проведенное исследование показало, что статистически значимой разницы в уровнях исследуемых гормонов в зависимости от степени варикоцеле установлено не было, значения показателей укладывались в диапазон референтного значения за весь период наблюдения. Динамика частоты отклонений также не выявила статистически значимых различий при сопоставлении результатов в этих группах. Вероятно, несмотря на то, что степень варикоцеле имеет значение для отражения клинических проявлений варикоцеле, она не отражает выраженности повреждения клеток Лейдига, поскольку значимой разницы в уровне тестостерона при обеих степенях варикоцеле установлено не было.

По данным ряда авторов, оперативная коррекция варикоцеле существенно улучшает функцию яичка, способствует увеличению синтеза тестостерона, приводит к оптимизации гормонального фона [141, 165, 335]. Очевидно, варикоцелэктомия не могла оказать влияние на уровни гонадотропных гормонов. В первую очередь предполагалось, что улучшение гемодинамики яичка после оперативной коррекции приведет к повышению уровня тестостерона на фоне оптимизации трофики тестикулярной ткани, клеток Лейдига. Результаты исследования не показали статистически значимой разницы в уровнях тестостерона в зависимости от давности оперативной коррекции не только в возрасте 14 лет, когда группе подростков операция еще не проводилась, но и в последующий период наблюдения. Значения уровней гормонов находились в пределах референтного интервала. Частота встречаемости отклонений от референтного интервала также отражала общую динамику пубертатного периода без статистически значимых отличий. Наблюдение динамики уровня гормонов может рассматриваться в качестве одного из перспективных направлений

исследования для уточнения патофизиологических изменений тестикулярной ткани и функционального состояния клеток Лейдига при варикоцеле.

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

Обычно нарушения репродуктивной функции у мужчин с варикоцеле не связывают с влиянием генетических факторов, но предполагается, что в условиях ишемии и гипоксии тестикулярной ткани экспрессия различных генов может меняться. Поэтому нельзя полностью исключить роль генетических факторов в нарушении репродуктивной функции при данной патологии. 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. Но, поскольку, по результатам спермограммы, ни в одном случае не зафиксировано азооспермии или олигозооспермии, вероятно эти мутации с ними не ассоциированы. В данных случаях возможные нарушения фертильности, вероятнее всего, не будут связаны с генетическими причинами. Остается риск наследования генетических мутаций в будущем от обследованных пациентов их детьми мужского пола [67, 78, 120, 167].

Несмотря на большое количество исследований, варикоцеле по-прежнему остается сложной клинической загадкой, в первую очередь, у подростков [115]. Это связано с тем, что последствия варикоцеле на функцию яичка и особенно на сперматогенез в детском и подростковом возрасте изучены в меньшей степени, чем у взрослых мужчин [249]. Проведенное исследование продемонстрировало, что

большая часть показателей спермограммы у подростков обеих групп находилась в пределах референтного интервала. Наиболее распространенным заключением являлась «нормозооспермия». Вероятно, это связано с тем, что несмотря на ишемическое повреждение яичка в условиях варикоцеле, у подростков в пубертатном периоде еще идет активное становление сперматогенеза и отмечается догоняющий рост яичка и это нивелирует негативное влияние варикоцеле на эякулят, а в ряде случаев даже способствует улучшению параметров спермы [141, 249, 266]. У подростков обеих групп практически идентичны показатели объема эякулята, концентрации и общего количества сперматозоидов, не зафиксировано ни одного случая олигозооспермии. Несмотря на то, что средний объем эякулята находился в пределах референтного интервала, приблизительно у трети подростков обеих групп в заключении указана олигоспермия (уменьшенный объем эякулята). В целом, олигоспермия и вискозипатия эякулята не сопровождалась патологическими отклонениями других параметров. Возможно, низкий объем и повышенная вязкость эякулята, наблюдаемые в некоторых случаях в подростковом периоде, связаны с неустановившейся функцией вспомогательных желез, поскольку примерный возраст начала производства сперматозоидов известен, но время стабилизации функций вспомогательных желез, процесса созревания и высвобождения сперматозоидов остается не только неизвестным, но и строго индивидуальным [370].

В целом, из проведенного исследования следует, что показатели подвижности сперматозоидов лучше у подростков без варикоцеле, а статистически значимое различие обнаружено лишь в категории «С» – непоступательное движение сперматозоидов. Этот показатель выше у подростков без варикоцеле, но в данном контексте несмотря на то, что движение непоступательное, оно играет положительную роль, так как увеличивает долю общей подвижности сперматозоидов. Соответственно, согласно полученным данным, астенозооспермия чаще диагностирована у подростков с варикоцеле.

При оценке морфологии сперматозоидов достоверно чаще у подростков с варикоцеле диагностирован дефект головки сперматозоидов, в то время как у

подростков без варикоцеле чаще выявлены аномалии шейки и жгутиков сперматозоидов. В условиях возможности использования ЭКО для лечения некоторых форм бесплодия, наличие дефектов шейки и особенно жгутика утрачивает свою актуальность. Дефекты головки напрямую связаны с вероятностью повреждения ДНК сперматозоидов, что и приводит к бесплодию.

У пациентов с III степенью варикоцеле реже диагностирована нормозооспермия, обнаружены худшие показатели концентрации и общего количества сперматозоидов по сравнению с подростками с II степенью варикоцеле и эти показатели отличались статистически значимо, но не выходили за пределы нормальных значений, поэтому их нельзя считать патологическими. Оказалось, что группа с олигоспермией в общей группе варикоцеле сформирована пациентами с III степенью варикоцеле. Показатели подвижности сперматозоидов также, в целом, несколько ниже у пациентов с варикоцеле III степени, нежели у пациентов других групп. Показатели морфологии были одинаковы при II и III степенях варикоцеле и отражали общую тенденцию к более высоким показателям дефекта головки сперматозоидов при варикоцеле. Кроме того, единственный диагностированный случай тератозооспермии принадлежал пациенту с III степенью варикоцеле. Таким образом, для большинства исследуемых параметров спермограммы статистически значимых различий в зависимости от степени прогрессии варикоцеле не установлено, показатели находились в пределах допустимых значений.

Как показало исследование, сроки оперативного вмешательства не внесли существенные изменения в результаты спермограммы. Статистически значимые различия при сравнении групп в зависимости от давности оперативной коррекции были выявлены только для морфологических показателей, которые не превышали допустимых значений и не могли расцениваться как патологические, рассматриваться в качестве риска нарушения репродуктивной функции при более поздней оперативной коррекции. Статистически значимо чаще выявленная олигоспермия при более поздней оперативной коррекции относится к состоянию, которое может быть устранено без терапевтического вмешательства при установлении функции вспомогательных желез по мере полового созревания и на

данном этапе еще не может рассматриваться в качестве убедительного фактора нарушения репродуктивной функции. Таким образом, степень прогрессии варикоцеле, давность варикоцелэктомии не оказали негативного влияния на сперматогенез у подростков в период с 14 до 17 лет.

Принято считать, что варикоцеле является значительным фактором риска снижения качества спермы, поскольку предполагается прогрессирующая природа этого патологического процесса на фоне исчезновения возможности догоняющего роста яичка после окончания полового развития, что, несомненно, приведет к нарушению сперматогенеза и стероидогенеза [131, 188, 262]. Также следует учесть, что качество спермы неуклонно ухудшается с возрастом и тем труднее будет сохранить репродуктивный потенциал [65, 358]. Исследование спермограммы очень редко проводится у подростков, а контроль за сперматогенезом, качеством эякулята надо начинать как можно раньше и желательно не только у подростков с патологией репродуктивной сферы, но и у здоровых. Многие нарушения закладываются в раннем детстве и в течение многих лет, до реализации репродуктивной функции, они остаются не диагностированными и не подвергаются коррекции и часто обнаруживаются на стадии, когда поправить их сложно или вовсе не представляется возможным. Показатели спермограммы очень переменчивы, и динамическая оценка параметров эякулята позволила бы определить индивидуальные данные для каждого конкретного пациента и отследить персонифицированную эволюцию изменений.

В связи с широким распространением варикоцеле среди бесплодных мужчин, это патологическое состояние рассматривается как основная причина инфертильности [141, 210, 276, 338]. Окислительный стресс является ключевым моментом в патофизиологии бесплодия при варикоцеле [2, 6, 29, 31, 69, 126, 205]. Окислительный стресс формируется в результате избыточного образования активных форм кислорода (АФК) и /или недостатка антиоксидантов, что и приводит к нарушению молекулярной организации клеточных структур, диагностируемой при электронной микроскопии сперматозоидов [39, 90, 119, 210, 287].

Проведя анализ полученных в результате ЭМИС данных, было установлено, что у подростков обеих групп также наиболее часто диагностирована нормозооспермия. Вероятно, это объясняется активным пубертатным периодом, гормональным подъемом, и на этом фоне даже небольшие отклонения гомеостаза легко восстанавливаются протеомом семенной плазмы и, в том числе, антиоксидантной системой [281].

Тем не менее, у подростков обеих групп выявлены сходные патологические изменения структуры сперматозоидов, а это значит, что АФК присутствуют в эякуляте и оказывают негативное воздействие. В оптимальном количестве АФК необходимы для улучшения функции сперматозоидов, поскольку они контролируют количество половых клеток, индуцируя апоптоз или стимулируя пролиферацию сперматогоний, регулируют реакцию акросомы, стабильность митохондриальных мембран и подвижность сперматозоидов, конденсацию хроматина [119, 310]. Избыток АФК приводит к перекисному окислению полиненасыщенных жирных кислот в мембранах сперматозоидов, обуславливая нарушение структуры и функции сперматозоидов [310]. Увеличение АФК в эякуляте приводит к фрагментации ДНК сперматозоидов, под которой понимают одно- и двухцепочечные разрывы ДНК из-за нарушения замены гистонов на протамины, приводящие к нарушению конденсации генетического материала и появлению точечных мутаций, полиморфизмов, делеций, хромосомных перестроек [31, 39, 119, 210, 276, 301, 310, 338]. На ультраструктурном уровне это может проявляться аномалиями головок, наличием неконденсированного, вакуолизированного хроматина и чаще встречается у подростков с варикоцеле.

Перекисное окисление мембран сперматозоидов и окислительная деградация липидов приводит к изменению «текучести» мембраны, образованию в ней крупных пор, изменению ионной проницаемости, приводя к формированию некомпактного содержания акросомы, ее преждевременной деградации [39, 119]. Результаты исследования свидетельствуют, что акросома является наиболее уязвимой структурой, наряду с митохондриями, изменения в ней выявляются гораздо чаще, чем в других структурах сперматозоидов у подростков обеих групп.

Повреждения мембран митохондрий в результате негативного воздействия избытка АФК приводит к их набуханию, деструкции крист и, в итоге, к нарушению подвижности сперматозоидов. Кроме того, потенциальной целью атаки АФК является не только ядерная, но и митохондриальная ДНК, являющаяся более уязвимой, поскольку ядерная ДНК более плотно упакована протаминами [140]. Повреждение митохондриальной ДНК также приводит к образованию делеций и полиморфизмов, формированию митохондриальной дисфункции [210]. У подростков с варикоцеле чаще выявлены патологические изменения митохондрий. И, очевидно, что диагностируемая при выполнении спермограммы астенозооспермия обусловлена этой причиной, поскольку признаки дисплазии сперматозоидов, в том числе и жгутиков, которые также могли бы привести к нарушению подвижности клеток, обнаружены в небольшом количестве. Остальные структуры – центриоли, сегментированные столбики, аксонема, фиброзные волокна – являются, видимо, более устойчивыми к действию АФК структурами, поскольку патологические изменения в них не обнаружены.

Источниками АФК являются сперматозоиды (зрелые, молодые клетки, аномальные формы), лейкоциты, клетки эпидидимиса, эндотелиальные клетки при варикоцеле, бактерии [15, 56, 119, 140, 205, 241, 251, 287]. Как следует из полученных в ходе исследования данных, в эякуляте пациентов обеих групп присутствуют практически все из перечисленных источников АФК, и при снижении антиоксидантной защиты можно ожидать возникновения патологических изменений сперматозоидов.

Таким образом, в подростковом возрасте у обследованных с варикоцеле и без варикоцеле, определены признаки повреждения ультраструктуры сперматозоидов, но они компенсированы, количество их невелико. Как правило, в подростковом возрасте не проводят исследование эякулята и многие факторы (наличие бактерий, лейкоцитов), а также патологические изменения остаются не диагностированными и не подвергаются коррекции, приводя в дальнейшем к тяжелому повреждению сперматозоидов и развитию бесплодия. При выполнении ЭМИС не выявлено

ультраструктурных изменений сперматозоидов, характерных только для варикоцеле.

При исследовании эякулята у подростков после варикоцелэктомии по достижении ими 17 лет выявлен нормальный сперматогенез.

По результатам бактериологического посева эякулята у подростков, как и предполагалось, не обнаружены патогенные микроорганизмы, а были выявлены следующие виды бактерий: *E. coli*, *E. faecalis*, относящиеся к основным уропатогенам [96, 353], а также *C. glucuronolyticum*, *C. minutissimum*, *Str. anginosus*, относящиеся к оппортунистическим патогенам, в том числе урогенитального тракта мужчин [118, 162, 250]. Кроме того, был обнаружен *St. epidermidis*, являющийся, преимущественно, сапрофитной флорой, но может быть и оппортунистическим патогеном в определенных случаях [250]. Роль таких микроорганизмов как *St. haemolyticus* в возможности вызвать инфекцию урогенитального тракта недостаточно изучена [162].

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. minutissimum*, хотя зафиксирован их скудный рост. В спермограмме в этих случаях диагностирована астенозооспермия, олигоспермия, признаки воспаления (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. Астенозооспермия была зафиксирована и в случаях умеренного роста *C. glucuronolyticum*.

Наличие условно-патогенных микроорганизмов *E. coli* и *E. faecalis* даже при умеренном росте не привели к патологическим изменениям параметров эякулята у подростков с варикоцеле, в то время как у подростков без варикоцеле диагностировано нарушение подвижности сперматозоидов.

Как показало проведенное исследование, наиболее часто при бактериоспермии диагностировано нарушение подвижности сперматозоидов, что

может быть обусловлено прямым цитотоксическим действием на сперматозоиды продуктов метаболизма бактерий и изменением в результате этого физико-химических свойств эякулята, в частности изменением уровня рН семенной жидкости, снижение или повышение которого оказывает негативное воздействие на сперматозоиды [168]. Кроме того, 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 [121, 329]. К нарушению подвижности сперматозоидов может приводить и повышенное образование агглютинирующих антиспермальных антител, опосредованное перекрестной реактивностью к антигенам бактерий и сперматозоидов [226, 299, 353]. По данным некоторых исследователей, бактериальные эндотоксины способны запускать экспрессию Toll-подобных рецепторов в мембранах сперматозоидов, что на фоне избыточной продукции АФК (активных форм кислорода) при воспалении, активации запрограммированной гибели клеток и усилении перекисного окисления липидов приводит к утечке цитохромов, активации киназ и накоплению мономеров YL-1, вызывающих деполяризацию мембран митохондрий [103]. 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.

Олигоспермия, диагностированная в ряде случаев при бактериоспермии, вероятнее всего, не связана с наличием бактерий в эякуляте, а обусловлена еще не установившимся сперматогенезом и функцией добавочных половых желез у подростков. О нарушении сперматогенеза бактериями и их токсинами могло бы свидетельствовать наличие большого количества аномальных форм сперматозоидов, как результат повреждения сперматогенного эпителия в семенных канальцах. В нашем исследовании сперматозоиды, как правило, имели нормальную морфологию, а выявленные изменения затрагивали правильно сформированные органеллы. Скорее всего, негативное влияние бактериоспермии на сперматозоиды происходило в дистальных, нестерильных отделах урогенитального тракта.

Маркером инфекционного процесса и воспалительной реакции любой локализации служит, как правило, наличие лейкоцитов [121, 248, 309, 346]. В проведенном исследовании лейкоциты были выявлены в спермограмме и при ЭМИС, но не во всех случаях они отражали наличие инфекционного процесса. Известно, что количество сегментоядерных нейтрофилов в семенной жидкости, помимо инфекции, может увеличиваться при курении, приеме лекарственных средств, физической активности, при варикоцеле [220]. Поэтому лейкоцитоспермия не может являться информативным прогностическим тестом, особенно в случаях бессимптомной бактериоспермии.

Повышение количества слизи в экуляте также может рассматриваться в качестве показателя присутствия бактерий и обусловленной ими воспалительной реакции, приводящей к дисфункции семенных пузырьков и предстательной железы. Вискозипатия эякулята выявлена в 10% случаев у подростков с варикоцеле при бактериоспермии. Несомненно, чаще всего повышение вязкости эякулята отмечено в случаях выраженной бактериоспермии. В тоже время, у подростков вискозипатия эякулята может быть обусловлена неустановившейся функцией вспомогательных желез, как уже упоминалось выше, о чем свидетельствовало наличие повышенного количества слизи и незначительным количеством бактерий без признаков воспалительной реакции.

Таким образом, можно предположить, что выявление изменений параметров эякулята при наличии бактерий может свидетельствовать о бессимптомной инфекции, в то время как присутствие даже условно-патогенных микроорганизмов без изменения сперматозоидов может трактоваться как контаминация образца. Кроме того, выявление патологических изменений в спермограмме при наличии микроорганизмов, относящихся к оппортунистическим, позволяет предположить, что патологический процесс обусловлен повышенным количеством бактерий (как правило, в этих случаях наблюдался обильный рост микроорганизмов) или сочетание различных видов бактерий, что может оказывать более благоприятное влияние на параметры спермы.

Необходимо учитывать, что простое присутствие бактерий в эякуляте уже может привести к ухудшению его качества, а хроническая бессимптомная инфекция может оказывать длительное негативное влияние на сперматогенез, проходимость семявыносящих и семявыбрасывающих протоков и инициировать формирование инфертильности.

Кроме того, у подростков с варикоцеле, предполагается, что сперматогенез изначально находится в неблагоприятных условиях, а наличие бактерий в эякуляте делает его еще более уязвимым. Поэтому выявление бактерий в эякуляте должно быть частью диагностики, и, возможно, в ряде случаев требует лечения с целью профилактики мужского бесплодия уже в подростковом возрасте.

Сопоставление результатов светооптического и электронно-микроскопического методов исследования биоптатов вен при варикоцеле позволило выявить однотипность изменений, но вариабельность их сочетаний в различных наблюдениях без статистически значимых различий между основной группой и группой сравнения. При II и III степени варикоцеле в 100 % случаев установлено повреждение эндотелиального слоя разной степени выраженности. Морфологическое исследование вен при варикоцеле обычно направлено на поиск аномалий соединительной ткани (дисплазии), которые, как предполагается, могут приводить к изменению сосуда в результате неспособности противостоять избыточной гемодинамической нагрузке. Возможность повреждения эндотелиоцитов с формированием эндотелиальной дисфункции практически не рассматривается при варикоцеле. Проведенное исследование позволило выявить наибольшее количество изменений в эндотелиальном слое и ультраструктуре эндотелиоцитов, проявляющихся их вакуолизацией, деструкцией, некрозом и десквамацией. При гистологическом исследовании вен при II степени варикоцеле обнаружено утолщение эндотелиоцитов и вакуолизация цитоплазмы без признаков деструкции клеток, в то время как при III степени варикоцеле диагностированы деструктивные изменения эндотелиоцитов. Проведение ультраструктурного анализа позволило более точно исследовать изменения эндотелиоцитов. Эндотелиоциты деформированы, частично или полностью десквамированы,

выявлены деформация ядер, деструкция митохондрий, а также обнаружен некроз эндотелиальных клеток.

Такие изменения эндотелия могут свидетельствовать о том, что при воздействии избыточной гемодинамической нагрузки, наблюдаемой при варикоцеле, в условиях гемодинамического стресса эндотелиоциты, непосредственно контактирующие с кровотоком, стремятся адаптироваться к создавшимся неблагоприятным условиям. Адаптационные возможности эндотелиоцитов достаточно велики, но не безграничны, и, достигнув предела, за которым клетки уже не могут компенсироваться, происходят их структурные изменения, они подвергаются деструкции и некрозу [36, 256]. Кроме того, морфологические изменения вен могут свидетельствовать о развитии функциональных изменений эндотелиоцитов. Поскольку функциональные изменения эндотелиоцитов, как правило, предшествуют морфологическим изменениям эндотелия и сосудистой стенки, то степень структурных изменений эндотелиоцитов может свидетельствовать о формировании эндотелиальной дисфункции [20, 44, 91, 93].

Исследование показало, что при варикоцеле имеются морфологические предпосылки формирования эндотелиальной дисфункции, которая может рассматриваться как фактор риска прогрессирования варикоцеле. Под эндотелиальной дисфункцией в настоящее время понимают нарушение равновесия между образованием вазодилатирующих, антитромбогенных, антипролиферативных факторов с одной стороны и вазоконстриктивных, протромботических и пролиферативных веществ, которые синтезирует эндотелий – с другой. В качестве основной причины и наиболее широко изученного механизма эндотелиальной дисфункции рассматривается окислительный стресс [21, 185]. Окислительный стресс определяется как нарушение баланса между избыточным образованием свободных радикалов, которое происходит при ишемии, гемодинамической нагрузке и недостаточности механизмов антиоксидантной защиты, развивающейся при снижении синтеза оксида азота поврежденными эндотелиоцитами [209]. Поддержанию и прогрессированию

окислительного стресса будет способствовать высвобождению свободных радикалов из деструктивно измененных и некротизированных эндотелиоцитов, обнаруженных при гистологическом и ультраструктурном исследованиях.

Также избыточное образование свободных радикалов возможно из эритроцитов и тромбоцитов, адгезированных к утратившим интактность поверхности эндотелиоцитам и оголенному субэндотелиальному слою, фиксированных между частично десквамированными эндотелиоцитами, валиками и щелевидными углублениями внутреннего слоя сосудистой стенки, поскольку они со временем подвергаются дегенеративным изменениям.

Известна функция эндотелия в обеспечении жидкого состояния крови путем образования антитромбогенных и тромбогенных веществ, которые участвуют в гемостазе. В физиологических условиях преобладает синтез антитромбогенных веществ, а при повреждении эндотелия активируется синтез тромбогенных факторов, что может привести к сосудистой тромбофилии и тромбообразованию [33, 61, 63, 64, 215]. Кроме того, повышению адгезии тромбоцитов и стимуляции процесса тромбообразования способствует дисконфлексация эндотелиального слоя, обуславливающая нарушение ровной гладкой интактной поверхности внутреннего сосудистого слоя. Адгезивная форма эндотелиальной дисфункции, проявляющаяся повышением экспрессии молекул адгезии поврежденным эндотелием, способствует адгезии не только тромбоцитов, но и лейкоцитов, приводя к развитию локальных воспалительных процессов и стимуляции образования активных форм кислорода, поддерживая тем самым окислительный стресс [92].

Развитие эндотелиальной дисфункции обусловлено нарушением сбалансированного синтеза эндотелиоцитами вазодилататоров и вазоконстрикторов с преобладанием последних, и это способствует развитию локального ангиоспазма [46]. Такая форма эндотелиальной дисфункции рассматривается как вазомоторная [61]. Повышение тонуса сосуда будет приводить к повышению сопротивления кровотоку, усилению гемодинамической нагрузки, повреждению эндотелия и усугублению эндотелиальной дисфункции.

Еще одной формой эндотелиальной дисфункции является ангиогенная, обуславливающая нарушение неоангиогенеза – сложного, многостадийного процесса, включающего в себя увеличение проницаемости эндотелия и разрушение базальной мембраны, миграция, пролиферация и созревание эндотелиальных клеток, ремоделирование сосудов. На различных этапах ангиогенеза важную роль играют факторы, образующиеся в эндотелиоцитах, например, сосудистый эндотелиальный фактор роста. Кроме того, на поверхности эндотелиальных клеток находятся рецепторы, с которыми взаимодействуют регуляторы ангиогенеза (ангиопоэтины, ангиостатин). Активация выработки стимуляторов роста и пролиферации при повреждении эндотелия приводит к ремоделирующему эффекту [33]. Несмотря на выявленные в ходе исследования вен семенного канатика выраженные изменения эндотелиоцитов, нельзя сказать, что они привели к реализации ангиогенной формы эндотелиальной дисфункции и ремоделированию сосудов, поскольку новообразованные сосуды были выявлены всего в двух случаях.

Неизбежным следствием деструкции и некроза эндотелиоцитов будет являться их десквамация, частичная или полная, и появление участков дезэндотелизации, которые выявлены в венах обеих исследуемых групп с II и III степенью варикоцеле. Наблюдаемая в биоптатах вен деструкция и десквамация эндотелия приводит к нарушению структуры интимы и оголению субэндотелиального слоя. Частичная десквамация эндотелиоцитов, проявляющаяся «вертикализацией» эндотелиоцитов выявлена в большинстве случаев как при II, так и при III степени варикоцеле. На ультраструктурном уровне, кроме указанных изменений, была диагностирована частичная фиксация эндотелиоцитов на некоторых участках, когда между цитоплазматической мембраной клетки и базальной мембраной остаются промежутки. Такие изменения также вносят вклад в изменение локальной гемодинамики, способствуют задержке эритроцитов и тромбоцитов. Дезэндотелизация внутренней стенки вены, определяемая также в обеих группах при варикоцеле обоими методами исследования, приводит к тому, что базальная мембрана и субэндотелиальный слой

остаются незащищенными. Барьерная функция эндотелия на таких участках отсутствует, и происходит миграция активных веществ в субэндотелиальный слой и близлежащие гладкие мышечные клетки, которые оказываются уязвимыми к таким факторам и подвергаются деструкции с последующим замещением соединительной тканью [256]. При гистологическом исследовании выявлены статистически значимые изменения базальной мембраны при III степени варикоцеле. Это приводит к повреждению субэндотелиального слоя. На ультраструктурном уровне дегенеративные изменения субэндотелиального слоя и его утолщение с образованием валиков обнаружены во всех исследуемых венах обеих групп. Это подтверждалось обнаружением в валиках субэндотелиального слоя измененных гладких мышечных клеток или очагов деструкции. Одновременно с этим процессом происходила инвагинация среднего слоя стенки вены во внутренний, что приводило к формированию валиков и щелевидных углублений. Формирование валиков способствовало улучшению прохождения крови по сосудам, поэтому их образование, с одной стороны, представляет компенсаторное явление, направленное на оптимизацию кровообращения. С другой стороны, избыточное образование валиков может свидетельствовать о развитии дисангиогенеза и ремоделировании сосуда [256].

Наличие таких валиков делает внутреннюю поверхность сосуда неровной, препятствует плотной фиксации эндотелиоцитов к субэндотелиальному слою, способствуя отторжению эндотелиоцитов, адгезии тромбоцитов и эритроцитов, поддержанию окислительного стресса и прогрессированию эндотелиальной дисфункции. Кроме того, в образуемых щелевидных углублениях между валиками находятся сдавленные, поврежденные эндотелиоциты, происходит задержка клеток крови. Валики, определяемые при гистологическом исследовании, образованы за счет гипертрофии гладких мышечных клеток и разрастания фиброзных и эластических волокон.

При гистологическом исследовании гипертрофия гладких мышечных клеток диагностирована в большинстве случаев обеих групп без достоверно значимых различий в зависимости от степени варикоцеле. Видны деструктивные изменения

клеток, проявляющиеся вакуолизацией цитоплазмы, фрагментацией ядра, разрушением митохондрий. Возможно, такие изменения предшествуют гибели клеток с последующим замещением их соединительной тканью. Признаки склероза при гистологическом исследовании определены более чем в 90 % случаев в обеих группах. На ультраструктурном уровне склероз обнаружен не во всех случаях, но наряду с массивными очагами склероза видны утолщения соединительнотканых прослоек между гладкими мышечными клетками. Если гипертрофию мышечных клеток можно рассматривать как механизм компенсации, то возникновение склероза - как признак декомпенсации, которая по мере прогрессирования приведет к ригидности стенки сосуда [256]. Следует отметить, что в венах обеих исследованных групп выявлены участки как гипертрофии стенки, так и участки истончения и дилатации, формирование зон склероза. В основе утолщения и склероза стенки вен, возможно, также лежит механизм повреждения гладких мышечных клеток в условиях гемодинамического стресса, ишемии с постепенным замещением их соединительной тканью, с последующим утолщением прослоек. Также в одном и том же срезе обнаружены относительно ровные участки внутреннего слоя и участки с образованием валиков. Вероятно, это связано с неодинаковой интенсивностью гемодинамической нагрузки, что и приводит к компенсаторным изменениям участков стенки вены и дальнейшей декомпенсации. Выявленные изменения сосудов определялись при II и III степенях варикоцеле без характерных корреляций морфологических изменений с клиническими проявлениями.

Таким образом, проведенное исследование позволило выявить глубокие структурные изменения эндотелиоцитов вены лозовидного сплетения при варикоцеле, являющиеся морфологическим проявлением сформировавшейся в условиях повышенной гемодинамической нагрузки эндотелиальной дисфункции. Но, учитывая отсутствие существенного подъема уровня цитокинов, в том числе и VEGF, которые могли свидетельствовать о формировании воспаления, можно предположить, что изменения вен лозовидного сплетения носят локальный

характер. Не выявлены признаки дисплазии вен семенного канатика, которые могли бы привести к прогрессированию варикоцеле.

Можно сделать заключение, что, несомненно, морфологические изменения вены лозовидного сплетения лежат в основе клинической симптоматики при варикоцеле, но значимых гистологических и ультраструктурных различий структуры стенки вен лозовидного сплетения при II и III степенях варикоцеле не установлено.

В целом, выявленные в подростковом возрасте патологические изменения показателей, отражающих состояние репродуктивного потенциала подростков не слишком критичны, но поскольку репродуктивная функция будет реализована через несколько лет, необходимо учитывать влияние возрастных изменений, неизбежное увеличение массы тела, нередко до ожирения, в результате гиподинамии, стресса, неправильных пищевых привычек, которые у мужчин напрямую связаны с олигозооспермией и астенозооспермией [272, 285]. У мужчин с ожирением снижается уровень общего и свободного тестостерона, уменьшается амплитуда импульсов ЛГ [285]. Кроме того, область мошонки у мужчин с избыточной массой тела находится в более тесном контакте с окружающими тканями, что предрасполагает к повышению температуры в этой области и неблагоприятному влиянию на показатели спермограммы [272].

Нельзя упускать из внимания и факторы образа жизни молодых людей. Согласно имеющимся в настоящее время данным, наблюдается появление глобальной неблагоприятной тенденции к рискованному, нездоровому поведению среди подростков мужского пола. Значит, часть молодых мужчин с недиагностированными андрологическими расстройствами может нарушить функцию яичек с риском последующего мужского бесплодия или гипогонадизма во взрослой жизни [285]. Большинство исследователей указывают на корреляцию между курением, употреблением алкоголя и запрещенных средств и нарушением функцией яичек у мальчиков пубертатного периода [285]. Курение, употребление алкоголя, возрастные изменения могут ухудшить все параметры эякулята и у фертильных, и у бесплодных мужчин [112]. Негативное влияние на показатели

спермы оказывают наблюдаемые в последние годы такие неблагоприятные факторы как психологический стресс, недостаток физической активности, употребление продуктов с низким содержанием богатых витаминами овощей и фруктов, омега-3-полиненасыщенных жирных кислот [112, 211, 236, 291]. Поэтому для улучшения и сохранения оптимальных показателей эякулята рекомендуется соблюдение здорового образа жизни, проведение своевременных лечебных мероприятий по коррекции соматической патологии для сохранения репродуктивной функции [223, 291].

Резюме

Подводя итог проведенному исследованию, следует отметить, что снижение репродуктивного потенциала подростков с варикоцеле может происходить в результате действия целого ряда факторов, вклад которых неравноценен, но тесно взаимосвязан. Их синергичное действие на протяжении многих лет до реализации репродуктивной функции может привести к необратимым изменениям и формированию бесплодия.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ 4 ГЛАВЫ

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. 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, К-2).

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

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

. 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).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя большое количество научной литературы, посвященной вопросу варикоцеле в целом и варикоцеле у детей и подростков в частности, неоднократно пришлось убедиться в единстве мнения авторов о том, что не существует данных о прямом негативном воздействии варикоцеле на репродуктивное здоровье, но варикоцелэктомия необходима для профилактики бесплодия. Поэтому была предпринята попытка всесторонне рассмотреть влияние основных факторов, рассматриваемых в качестве причины нарушения репродуктивной функции при варикоцеле у подростков после его хирургической коррекции на протяжении периода с 14 до 17 лет.

Уровни АСАТ в сыворотке крови и уровни цитокинов и АСАТ в эякуляте были исследованы для оценки влияния иммунологических факторов на репродуктивную функцию подростков с варикоцеле. На протяжении всего исследования у подростков с варикоцеле не выявлялось превышение допустимых значений уровня АСАТ в сыворотке крови, но зафиксирован резкий подъем уровня АСАТ в 15 лет у подростков обеих групп, что, вероятно, связано с перестройкой гематотестикулярного барьера на фоне активной выработки тестостерона, увеличение уровня которого также наблюдалось в этом возрасте. Можно предположить, что формирование иммунотолерантности яичка завершается, когда перестает увеличиваться уровень АСАТ и даже наблюдается его снижение, что и было зафиксировано у подростков без варикоцеле. Несмотря на то, что у подростков с варикоцеле уровень АСАТ сохранялся в пределах нормальных величин, снижения его не отмечено. С одной стороны, учитывая разный период вступления в пубертат и его окончание и ограниченный временной интервал исследования, можно предположить, что снижение АСАТ произойдет позже. Тем не менее, на данном этапе это можно расценить как предрасполагающий фактор развития аутоиммунной формы бесплодия при варикоцеле, который может реализоваться при воздействии каких-либо негативных факторов, таких как

воспалительный процесс, инфекции, травма. В целом, исследование показало, что функция гематотестикулярного барьера при варикоцеле после его хирургической коррекции в подростковом возрасте не нарушена.

Выявленное лишь в 6 % случаев незначительное повышение уровня АСАТ в семенной жидкости позволяет предположить, что при варикоцеле не происходит формирование местных аутоиммунных реакций к сперматозоидам.

Варикоцеле формируется постепенно, есть возможность адаптации к изменяющейся гемодинамической нагрузке, поэтому, вероятно, исследованные в работе вены не имеют признаков острого воспаления, которое обычно сопровождается значительным повышением острофазных цитокинов. Однако, характерная для цитокинов высокая индивидуальная вариабельность, участие цитокинов не только в патологических, но и регуляторных процессах, универсальность их действия для всех типов реакций во всех органах и тканях дают возможность использовать определение уровня цитокинов только в качестве вспомогательного исследования для оценки тяжести патологического процесса. Отсутствие провоспалительного статуса сосудов и сохраняющийся стабильный уровень всех исследуемых цитокинов могут расцениваться как благоприятные признаки в отношении того, что воспалительный процесс в сосудах не будет прогрессировать и способствовать дальнейшему изменению стенки вены. В пользу этого свидетельствует и тот факт, что низкий ИМТ, рассматриваемый в качестве основной причины гемодинамических нарушений при варикоцеле и приводящий к извитости вен, нивелировался по мере взросления подростков и уже в 16-17 лет в основной массе обследуемых дефицита массы тела не отмечалось. К этому же возрастному периоду уже не наблюдался и интенсивный рост подростков. Все это может рассматриваться в качестве факторов, замедляющих прогрессирование варикоцеле.

В отношении цитокинового профиля эякулята установлен более высокий уровень провоспалительных цитокинов у подростков с варикоцеле по сравнению с подростками группы сравнения, что может свидетельствовать о местном воспалительном процессе. В то же время, выявленное повышение уровня

цитокинов не настолько велико, чтобы однозначно трактовать его в пользу воспалительного процесса. Возможно, такое повышение связано с активацией адаптационных механизмов, обусловленных варикоцеле, его оперативной коррекцией с последующим реабилитационным периодом на фоне активации полового созревания. Таким образом, у подростков с варикоцеле не выявлено формирование аутоиммунных механизмов нарушения репродуктивной функции, но диагностировано повышение уровня цитокинов в эякуляте, что требует дальнейшего исследования и поиска причин этого повышения.

У подростков в возрасте 14-17 лет не выявлено метаболических нарушений, что, в целом, ожидаемо для этого возрастного периода, нет признаков дислипидемии, гипергликемии, которые могли бы повлиять на эндокринные показатели.

В качестве информативного, надежного диагностического критерия снижения фертильности у мужчин всегда рассматривался уровень гормонов, таких как ФСГ, ЛГ, тестостерон, эстрадиол. У подростков до начала активного пубертатного периода обнаружены несколько сниженные уровни ФСГ, ЛГ, тестостерона, но при динамическом наблюдении установлено их постепенное повышение и достижение ими значений референтного интервала. Оценка уровня гонадотропных гормонов у подростков пубертатного периода позволила исключить наличие первичной эндокринной недостаточности, которая могла бы привести к снижению синтеза тестостерона без воздействия варикоцеле, поскольку уровни ФСГ и ЛГ оставались стабильными в пределах референтного интервала на протяжении всего исследования. Динамическая оценка показателей тестостерона продемонстрировала активный пубертатный период с нарастающим уровнем тестостерона у всех подростков. Резкий подъем уровня тестостерона зафиксирован в 15 лет у подростков обеих групп и с этого же возраста сохранялся статистически значимо более высокий уровень тестостерона у подростков без варикоцеле на протяжении всего исследования. Возможно, у подростков с варикоцеле имеются признаки гипогонадизма, маскируемые пубертатным периодом и во взрослом

состоянии на фоне возрастного снижения уровня андрогенов это может привести к нарушению репродуктивной функции.

В целом, у подростков с варикоцеле не зафиксировано изменений эндокринного профиля, свидетельствующих о возможности нарушения репродуктивной функции.

Генетические факторы и варикоцеле рассматриваются как самостоятельные причины мужского бесплодия, и практически не учитывается возможность влияния генетических аномалий на формирование бесплодия при варикоцеле. Выявление генетической причины бесплодия, как правило, проводится после исключения более распространенных причин infertility. В случае диагностированного варикоцеле при бесплодии поиск генетических причин нарушения фертильности, скорее всего, проводиться не будет или будет отложен. Поэтому частота встречаемости генетических аномалий в нарушении репродуктивной функции при варикоцеле до сих пор изучена недостаточно. В проведенном исследовании у подростков с варикоцеле суммарно количество изменений кариотипа и наличие мутаций в генах AZF и CFTR составило всего 5%, но они не проявились нарушениями сперматогенеза. Поэтому роль генетических факторов в нарушении репродуктивной функции при варикоцеле не может считаться существенной.

Анализ спермограммы у подростков затруднен в связи с этическими аспектами, отсутствием референтных значений именно для подростков и, соответственно, незнанием, как трактовать полученные результаты. Тем не менее, для оценки состояния сперматогенеза в условиях варикоцеле другого, более информативного теста, отражающего целый ряд показателей, в том числе и функцию вспомогательных желез, пока нет. У подростков обеих групп в большинстве случаев диагностирована «нормозооспермия» и это, вероятнее всего, связано с периодом полового созревания, оптимальным гормональным фоном, догоняющим ростом яичка даже несмотря на наличие варикоцеле. Низкие показатели объема эякулята, повышенная вязкость позволили оценить функцию вспомогательных желез как еще не полностью сформированную. Но у подростков

с варикоцеле чаще выявлены нарушения подвижности сперматозоидов, дефекты головок сперматозоидов.

В пубертатный период начинается активный сперматогенез, сопровождающийся образованием большого количества юных форм сперматозоидов, накоплением активных форм кислорода, необходимых в небольших количествах для созревания сперматозоидов. Избыток свободных радикалов приводит к повреждению сперматозоидов на ультраструктурном уровне. Подросткам обеих групп было выполнено ЭМИС с целью диагностики патологических изменений сперматозоидов, не выявленных в спермограмме. У подростков обеих групп наиболее уязвимыми структурами, в которых чаще всего были обнаружены изменения, являются мембранные структуры – акросома, а также митохондрии. Выявленное повреждение митохондрий в жгутиках сперматозоидов позволило подтвердить, что астенозооспермия, выявленная у подростков, обусловлена деструктивными изменениями митохондрий, а не нарушением дифференцировки сперматозоидов, которое предполагалось в результате ишемического и гипоксического поражения тестикулярной ткани при варикоцеле. Количество выявленных ультраструктурных изменений у подростков обеих групп невелико, диагностически не значимо и статистически значимых различий между группами не установлено. Можно предположить, что в активном пубертатном периоде все негативные воздействия на сперматозоиды компенсированы, и не выявлено показателей, более информативных для определения нарушения репродуктивной функции, чем в спермограмме.

Анализ спермограммы позволил точно выявить подростков из обеих обследуемых групп, у которых есть прямые признаки ухудшения репродуктивного потенциала и которые нуждаются в дальнейшем наблюдении и, возможно, лечении для сохранения фертильности.

Еще одним значимым фактором в формировании бесплодия, безусловно, является наличие возбудителей инфекций, передаваемых половым путем. Изучена и доказана роль патогенной микрофлоры в развитии воспалительного процесса в урогенитальном тракте с последующим исходом в инфертильность. Но подростки,

в большинстве случаев, еще не живут половой жизнью, и основной источник микроорганизмов в эякуляте представлен уропатогенами или оппортунистическими микроорганизмами. Тем не менее, при бактериоспермии указанные микроорганизмы также могут оказывать негативное влияние на сперматозоиды, приводя к повреждению их структур, нарушая подвижность, влияя на параметры семенной жидкости и приводя к развитию воспалительной реакции. Как показало проведенное исследование, при бессимптомном носительстве бактерий и при наличии признаков воспалительного процесса у подростков обеих групп при бактериоспермии диагностированы патологические изменения параметров спермограммы, выявлены ультраструктурные изменения сперматозоидов. Поэтому диагностика бактериоспермии важна не только с точки зрения своевременной санации урогенитального тракта с целью предупреждения повреждения сперматозоидов, но и может выступать в качестве диагностического критерия снижения репродуктивного потенциала.

Проведенное исследование позволило выявить выраженные изменения семенной вены на гистологическом и ультраструктурном уровне.

Не установлено диспластических изменений стенки вены, которые, как предполагается, при варикоцеле приводят к мальформации сосуда при повышенной гемодинамической нагрузке. Выявлены изменения, затрагивающие все отделы стенки сосуда различной степени выраженности, которые можно подразделить на альтеративные (дискомплексация и десквамация эндотелиоцитов, деструктивная трансформация гладких мышечных клеток), компенсаторно-приспособительные (гипертрофия гладких мышечных клеток, формирование валиков) и изменения, свидетельствующие о декомпенсации (наличие очагов склероза). Эти изменения могут быть причиной прогрессирования варикоцеле, чему может способствовать возникновение такого самоподдерживающегося процесса как эндотелиальная дисфункция, морфологические признаки которой выявлены в процессе исследования всех вен и которая проявляется значительными признаками повреждения эндотелия – деструкция, некроз, десквамация. Предполагается, что поддержанию воспалительного процесса в стенке вены могут

способствовать высвобождающиеся свободные радикалы из поврежденных эндотелиоцитов, а также лейкоцитов и тромбоцитов, адгезированных к оголенному субэндотелиальному слою, фиксированных между валиками и десквамированными клетками. Кроме того, поврежденные эндотелиоциты являются источником про- и противовоспалительных цитокинов, уровень которых может отражать выраженность воспалительного процесса. Но проведенное исследование не выявило повышения уровня цитокинов в сыворотке крови, которое бы убедительно свидетельствовало о провоспалительном статусе вен семенного канатика при варикоцеле. Возможно, это связано с небольшой площадью поврежденных сосудов при варикоцеле относительно общей площади кровеносного русла, что не привело к выраженному воспалительному процессу.

Резюмируя полученные данные, можно сделать вывод, что у подростков с варикоцеле не зафиксировано проявления иммунологических, эндокринных и метаболических механизмов нарушения репродуктивной функции, отсутствует влияние генетических факторов на репродуктивное здоровье. Выявлены признаки местного воспалительного процесса уrogenитального тракта, наличие условно-патогенной микрофлоры в эякуляте, приводящей к нарушению подвижности сперматозоидов.

В последнее время обсуждается вопрос о целесообразности выделения степеней варикоцеле, поскольку считается, что степень варикоцеле отражает только выраженность клинических проявлений. В подростковом возрасте не исключено, что степень варикоцеле может играть существенную роль в формировании патологических изменений в тестикулярной ткани, по крайней мере, до исчезновения дефицита ИМТ и прекращения прогрессирующего роста подростков. В ходе исследования была предпринята попытка выявить разницу в определяемых показателях в зависимости от степени прогрессии варикоцеле. Степень варикоцеле, как уже упоминалось, диагностируется при осмотре и выполнении пробы Вальсальвы, имеет клиническое значение. Но вопрос о том, насколько изменены показатели цитокинового статуса, уровня АСАТ, гормонального профиля, показатели спермограммы в зависимости от степени

варикоцеле, практически не изучен. В результате исследования установлено, что отсутствует взаимосвязь между выраженностью морфологических изменений вен, уровнем цитокинемии и степенью варикоцеле. Не установлено различия в функционировании гематотестикулярного барьера и эндокринной функции яичка в зависимости от степени варикоцеле. При III степени варикоцеле выявлен статистически значимо более низкий ИМТ, встречающийся у большего количества подростков. Это в большей степени подтверждает его влияние на клиническое проявление заболевания, не приводя при этом к патологическим изменениям исследуемых показателей. Выявленные у подростков при III степени варикоцеле в спермограмме более низкие показатели концентрации и общего количества сперматозоидов по сравнению с подростками с II степенью варикоцеле не могут считаться патологическими, поскольку укладываются в значения референтного интервала. В показателях морфологии сперматозоидов при разных степенях варикоцеле различий не выявлено. Полученные данные свидетельствуют о том, что степень прогрессии варикоцеле не оказала негативного влияния на эндокринную функцию яичка, гематотестикулярный барьер и сперматогенез в послеоперационном периоде с 14 до 17 лет.

При оценке исследуемых параметров в зависимости от давности оперативного вмешательства, представился интересным вопрос изучения оптимальных сроков оперативной коррекции варикоцеле с точки зрения улучшения показателей фертильного потенциала. Обычно вопрос о варикоцелеэктомии решается однозначно при наличии болей, дискомфорта, но, если этих симптомов нет, имеет ли смысл превентивное лечение с целью сохранения репродуктивной функции? Кроме того, ряд исследователей убеждены, что максимальное восстановление объема и функции тестикул возможно только в том случае, если варикоцелеэктомия выполнена до 14 лет.

У подростков с недавней оперативной коррекцией сохранялись статистически значимо более высокие уровни IL-8 на всем протяжении исследования, а TNF α только в 14 лет до выполнения операции. Возможно, это

связано с более коротким послеоперационным периодом и не в полной мере восстановленной гемодинамикой.

При оценке уровня АСАТ в сыворотке крови и эякуляте в зависимости от давности оперативного вмешательства существенной разницы не установлено, не обнаружено нарастания уровня и титра антител, превышения референтного интервала, следовательно, варикоцелэктомия не провоцирует аутоиммунные реакции. Не зафиксировано статистически значимых различий в уровне тестостерона в зависимости от давности оперативной коррекции варикоцеле, причем разница не выявлена даже в возрасте 14 лет, когда части подростков варикоцелэктомия еще не была выполнена. Давность оперативной коррекции варикоцеле не оказала влияния на показатели спермограммы. Несмотря на то, что морфологические показатели сперматозоидов статистически значимо различаются, они не превышают допустимые значения и не могут трактоваться как патологические.

В целом, полученные результаты демонстрируют, что более ранняя варикоцелэктомия не оказала какого-либо влияния на функцию гематотестикулярного барьера и эндокринную функцию яичка. На устранение местного воспалительного процесса, наличие бактерий в урогенитальном тракте и связанное с ними нарушение подвижности сперматозоидов, выявленных у подростков с варикоцеле, оперативная коррекция варикоцеле влияния не оказала. Это не противоречит выводам Европейской ассоциации урологов и Европейского общества детских урологов о том, что лучшего андрологического результата не следует ожидать при более раннем хирургическом лечении варикоцеле.

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 и высок риск возникновения эндокринных нарушений. У подростков с варикоцеле это происходит на фоне нарушения гемодинамики яичка, сопровождающегося 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 нарушения функции одного яичка активацией функции другого. Возможно, позитивное влияние оказывает активный пубертатный период. Результаты работы дали ответ на фундаментальный вопрос, является ли варикоцеле непосредственной причиной нарушения репродуктивной функции в подростковый период. 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, то, вероятно, это происходит в более старшем возрасте 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 не выявлены признаки дисплазии вен семенного канатика, отсутствуют признаки эндотелиальной дисфункции, устранение препятствия кровотоку предотвратит дальнейшую модификацию сосудов. Негативные эффекты варикоцеле считают долгосрочными и неуклонно прогрессирующими, вероятно, из-за того, что разрыв между сроками хирургической коррекции и временем, когда можно будет оценить ее результат, очень продолжителен и остается неизвестным, какие процессы в это время происходят в тестикулярной ткани. К моменту реализации репродуктивной функции обследуемыми подростками возможному развитию бесплодия будут способствовать возрастные изменения и формирование андрогенного дефицита, воздействие негативных факторов окружающей среды и профессиональных вредностей, присоединение соматических заболеваний и инфекционно-воспалительных заболеваний репродуктивного тракта, появление вредных привычек. Все это будет приводить к неуклонному снижению фертильного потенциала и, в конечном итоге, формированию бесплодия, но уже в более поздний возрастной период.

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.

В формировании репродуктивного потенциала мужчины крайне важную роль играет состояние его здоровья в детском и подростковом возрасте. Более раннее выявление факторов риска развития андрологической патологии дает

возможность своевременно предотвратить развитие бесплодия у мужчин в репродуктивном возрасте.

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 (дисконплексація, десквамація эндотелиоцитов, деструктивна трансформація 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 ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авадиева, Н.Э. Применение ДНК фрагментации спермы в андрологической практике / Н.Э. Авадиева // Вестник урологии. – 2019. – Т.7, № 1. – С. 7-11. doi: 10.21886/2308-6424-2019-7-1-7-11.
2. Антиоксиданты в лечении пациентов с воспалительными заболеваниями мужской репродуктивной системы, осложненными экскреторно-токсической формой бесплодия / С.В. Выборнов, Ф.Р. Асфандияров, К.С. Сеидов, и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2018. - № 3. – С. 74-78.
3. Антиспермальные антитела при мужском бесплодии, связь с абдоминальным ожирением / Е.А. Епанчинцева, В.Г. Селятицкая, И.М. Митрофанов, и др. // Успехи современного естествознания. – 2015. - № 4. - С. 24-27.
4. Аполихин, О.И. Современная демографическая ситуация и проблемы улучшения репродуктивного здоровья населения России / О.И. Аполихин, Н.Г. Москалева, В.А. Комарова // Экспериментальная и клиническая урология. – 2015. - № 4. – С. 4-14.
5. Багдасарян, А.Г. Дисфункция эндотелия при болезнях периферических артерий и вен / А.Г. Багдасарян, К.К. Криволапов, С.В. Моисеев // Клиническая фармакология и терапия. – 2015. – Т. 24, № 2. - С. 54-60.
6. Баженов, И.В. Роль окислительного стресса в патогенезе мужского бесплодия / И.В. Баженов, А.Г. Багдасарян, Е.С. Филлипова // Урология и нефрология. – 2018. - № 29. – С. 50-58.
7. Вавилов, Н.В. Окислительная модификация белков и микробный пейзаж эякулята при мужском бесплодии / Н.В. Вавилов, М.С. Степанов, Е.Ю. Бушкова // Международный студенческий вестник. – 2016. - № 6. – С.34.
8. Варикоцеле в детском возрасте / С.Л. Коварский, Л.Б. Меновщикова, Т.И. Дерунова, и др. // Детская хирургия. – 2008. - № 6. - С.50-53.

9. Варикоцеле и репродуктивная функция: возможности коррекции патозооспермии (данные проспективного сравнительного исследования) / В.А. Божедомов, А.Б. Шомаруфов, Г.Е. Божедомова, и др. // Урология. – 2021. - № 2. – С. 62-68. doi: <https://dx.doi.org/10.18565/urology.2021.2.62-68>.

10. Варикоцеле и репродуктивная функция. Эпидемиология и риск развития бесплодия (данные обследования 3908 мужчин) / В.А. Божедомов, А.Б. Шомаруфов, Г.Е. Божедомова, и др. // Урология. – 2021. - № 3. – С. 122-128. doi: <https://dx.doi.org/10.18565/urology.2021.3.122-128>.

11. Варикоцеле: современное состояние проблемы / С. Гамидов, Р. Овчинников, А. Попова, и др. // Врач. – 2013. - № 1. – С.12-15.

12. Варикоцеле у детей / А.Б. Окулов, Е.А. Володько, Д.Н. Годлевский, и др. // Детская хирургия. – 2018. – Т.22, № 2. – С. 88-95. doi: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9510-2018-22-2-88-95>.

13. Варикоцеле – что нам известно? / Р.Ю. Андреев, П.И. Раснер, В.А. Малхасян, и др. // Московский хирургический журнал. – 2019. – № 5. - С. 24-31. doi: [10.17238/issn2072-3180.2019.5.24-31](https://doi.org/10.17238/issn2072-3180.2019.5.24-31).

14. Взаимосвязь концентрации фактора некроза опухоли альфа и интерлейкина-10 с развитием фатальных и нефатальных осложнений у больных эссенциальной гипертензией в процессе среднесрочного наблюдения / А.Г. Полупанов, Т.Б. Залова, Ф.Т. Рысматова, и др. // Артериальная гипертензия. – 2019. - Т. 25, № 5. - С. 540-548. doi.org/[10.18705/1607-419X-2019-25-5-540-548](https://doi.org/10.18705/1607-419X-2019-25-5-540-548).

15. Влияние бессимптомных инфекций урогенитального тракта на показатели эякулята у мужчин с бесплодием и варикоцеле / Л.Ф. Курило, Т.М. Сорокина, Г.Н. Матющенко, и др. // Андрология и генитальная хирургия. – 2016. – Т. 17, № 2. – С. 98-103. doi: [10.17650/2070-9781-2016-17-2-98-103](https://doi.org/10.17650/2070-9781-2016-17-2-98-103).

16. Влияние варикоцеле на гормональный фон и репродуктивную систему мужчины / Е.А. Ефремов, С.Ю. Шеховцов, А.О. Бутов, и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2019. - № 1. – С. 102-107. doi: [10.29188/2222-8543-2019-11-1-102-106](https://doi.org/10.29188/2222-8543-2019-11-1-102-106).

17. Генетически обусловленные формы бесплодия у мужчин: основные характеристики и практические аспекты лабораторной диагностики / Д.С. Михайленко, И.Ю. Соболев, Е.А. Ефремов, и др. // Экспериментальная и клиническая урология. -2020. – № 1. - С. 96-104. doi: 10.29188/2222-8543-2020-12-1-96-104.

18. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С.Гланц // Пер. с англ. под редакцией Н.Е. Бузикашвили, Д.В. Самойлова. – Москва, Практика, 1998 – 459 с.

19. Годовалов, А.П. Опыт изучения образцов эякулята инфертильных мужчин с бессимптомной бактериоспермией / А.П. Годовалов // Электронный научно-образовательный Вестник «Здоровье и образование в XXI веке». – 2015. – Т.17, № 11. – С. 19-23.

20. Головченко, Ю.И. Обзор современных представлений об эндотелиальной дисфункции / Ю.И. Головченко, М.А. Трещинская // Consil. Med. Ukraina. – 2010. - № 11. – С. 38-39.

21. Гуреев, В.В. Эндотелиальная дисфункция – центральное звено в патогенезе гестоза / В.В. Гуреев // Научные ведомости Белгородского государственного университете. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. - № 4. – С. 5-12.

22. Динамика уровней цитокинов у больных инфарктом миокарда, перенесших экстренное чрескожное коронарное вмешательство / Е.А. Шмидт, С.А. Бернс, О.Л. Барабаш, и др. // Медицинская иммунология. – 2012. – Т. 14, № 4-5. - С.359-364.

23. Дорофеев, С.Д. Терапия идиопатической патоспермии / С.Д. Дорофеев, Е.А. Ефремов, В.В. Симаков // Урология и нефрология. – 2015. - № 2. - С. 24-30.

24. Жуков, О.Б. Улучшение качества жизни и морфофункциональных характеристик сперматозоидов у мужчин с хроническим абактериальным простатитом и программы прегравидарной подготовки к отцовству / О.Б. Жуков, В.В. Евдокимов, Е.Е. Брагина // Андрология и генитальная хирургия. – 2017. - № 18. – С. 102-108. doi: 10.17650/2070-9781-2017-18-1-102-108.

25. Закаидзе, С.И. Оптимизация лечебно-диагностического комплекса ведения детей и подростков с варикоцеле / С.И. Закаидзе // Медицинский вестник северного Кавказа. - 2012. - № 2. – С. 83-84.

26. Иммунологические и генетические факторы нарушения репродуктивной функции: монография / В.А. Черешнев, И.В. Рыбина, Я.Б. Бейкин, и др. - Екатеринбург: УрО РАН. – 2005. - 175с.

27. Иммунопатогенетические прогностические факторы фертильного потенциала у мужчин с левосторонним варикоцеле / И.А. Наконечный, А.М. Гаврилюк, А.И. Наконечный, и др. // Новости хирургии. – 2019. – Т.27, № 6. - С. 662-673. doi: 10.18484/2305-0047.2019.6.662.

28. Интерлейкин-8 способен поддерживать провоспалительную активность моноцитов (макрофагов) человека / М.Е. Меняйло, В.В. Малащенко, В.А. Шмаров, и др. // Гены и клетки. – 2018. – Т.13, № 1. – С. 65-69. doi: 10.23868/201805007.

29. Калиниченко, С.Ю. Окислительный стресс и мужское бесплодие – взаимосвязанные пандемии XXI в. Современные фармакотерапевтические возможности патогенетической коррекции нарушений сперматогенеза препаратами L-карнитина/ацетил-L-карнитина / С.Ю. Калиниченко, И.А. Тюзиков // Урология и нефрология. – 2017. - № 22: спецвып. «Мужское здоровье». – С. 6-19.

30. Каневская, Т.А. Гормональный статус и маркеры аутоиммунного нарушения сперматогенеза у подростков, перенесших хирургическое лечение по поводу варикоцеле / Т.А. Каневская, С.П. Яцык, О.Б. Безлепкина // Педиатрическая фармакология. – 2010. - № 4. – С. 92-94.

31. Кириленко, Е.А. Окислительный стресс и мужская фертильность: современный взгляд на проблему / Е.А. Кириленко, В.Ф. Онопко // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2017. – Т. 2, № 2. - С. 102-108.

32. Клиническое значение «старшего отцовского возраста» в контексте мужского бесплодия и вспомогательных репродуктивных технологий / Д.С. Рогозин, В.Н. Миронов, С.В. Сергейко, и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2019. - № 4. – С. 60-66. doi: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-60-66.

33. Колобова, О.И. Роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе варикозной болезни / О.И. Колобова, О.Г. Симонова, В.А. Лещенко // Политравма. – 2015. - № 1. – С. 36-41.

34. Комарова, С.Ю. Пути снижения риска репродуктивных потерь у детей с варикоцеле / С.Ю. Комарова, Н.А. Цап // Медицинская наука и образование Урала. - 2017. - № 1. - С. 98-101.

35. Концентрация половых гормонов в лозовидном сплетении яичка у пациентов с варикоцеле / Ю.А. Кравцов, В.И. Макаров, З.А. Сечинава и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2012. - № 1. – С. 32-35.

36. Конюх, Е.А. Клинические особенности течения острого и хронического гломерулонефритов у детей с дисфункцией эндотелия / Е.А. Конюх, Н.С. Парамонова // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2010. - № 2. – С. 149-151.

37. Крупин, В.Н. Варикоцеле и репродуктивная функция мужчин / В.Н. Крупин, М.Н. Уездный, А.В. Крупин // Экспериментальная и клиническая урология. – 2020. - № 3. – С. К104-109. doi: 10.29188/2222-8543-2020-12-3-104-109.

38. Кулешов, Н.П. Современные методы в клинической цитогенетике / Н.П. Кулешов // Современные проблемы в цитогенетике. – Москва, 1991. - С. 91-146.

39. Кульченко, Н.Г. Основные виды антиоксидантной терапии патоспермии / Н.Г. Кульченко // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». – 2018. - № 1. – С. 41-38.

40. Кучеров, В.А. Возможности и перспективы интраоперационного исследования половых гормонов при варикоцеле / В.А. Кучеров, Ю.А. Кравцов, С.В. Матвеев // Гинекология. – 2018. - № 5. - С. 102-107. doi: 10.25694/urmj.2018.04.084.

41. Лукоянова, Л.Ф. Сигнальные механизмы адаптации к гипоксии и их роль в системной регуляции / Л.Ф. Лукоянова, Ю.И. Кирова, Г.В. Сукоян // Биологические мембраны. – 2012. – Т.29, № 4. - С. 338-252.

42. Любин, А.В. Функциональное состояние эндотелия при электротравме / А.В. Любин, Н.И. Перепелицын, К.Г. Шаповалов // Забайкальский медицинский вестник. - 2012. - № 1. - С. 56-59.
43. Макулова, М.В. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе гестоза / М.В. Макулова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. - № 6. – С. 44-54.
44. Маргиева, Т.В. Участие маркеров эндотелиальной дисфункции в патогенезе хронического гломерулонефрита / Т.В. Маргиева, Т.В. Сергеева // Вопросы современной педиатрии. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 22-30.
45. Маргиева, Т.В. Эндотелиальная дисфункция при различных формах гломерулонефрита у детей / Т.В. Маргиева, И.Е. Смирнов, А.Г. Тимофеева // Российский педиатрический журнал. – 2009. - № 2. – С. 34-38.
46. Мельникова, Ю.С. Эндотелиальная дисфункция как центральное звено патогенеза хронических болезней / Ю.С. Мельникова, Т.П. Макарова // Казанский медицинский журнал. – 2015. - № 4. – С. 659-665.
47. Морфологическая сущность клинической симптоматики при разной степени выраженности варикоцеле / Л.О. Севергина, Л.Б. Меновщикова, Э.С. Севергина, и др // Андрология и генитальная хирургия. – 2010. - № 2. – С.44-48.
48. Морфологическая характеристика яичковых вен у детей с варикоцеле / С.Л. Коварский, Л.Б. Меновщикова, А.И. Гуревич, и др. // Детская хирургия. – 2008. - № 5. - С.27-29.
49. Морфологическое прочтение биоптатов сосудов, полученных при оперативном лечении варикоцеле у детей / Э.С. Севергина, Л.В. Леонова, С.Л. Коварский, и др. // Детская хирургия. – 2009. - № 6. – С.28-31.
50. Мужское бесплодие в Российской Федерации: статистические данные за 2000-2018 годы / Г.С. Лебедев, Н.А. Голубев, И.А. Шадеркин, и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2019. - № 4. - С. 4-12. doi: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-4-12.

51. Мужское бесплодие и инсулинорезистентность: есть ли патогенетические связи и кто, когда и как должен диагностировать и лечить? / И.А. Тюзиков, С.Ю.Калиниченко, Л.О. Ворслов, и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2014. - № 2. - С.68-75.

52. Нарушения содержания цитокинов в спермальной плазме у мужчин с бесплодием / Д.В. Устинов, Б.И. Айзикович, А.Р. Антонов, и др. // Современные наукоемкие технологии. – 2014. - № 2. - С.102.

53. Неймарк, А.И. Особенности микроциркуляции предстательной железы и гонад у юношей, страдающих изолированным варикоцеле и варикоцеле в сочетании с тазовой конгестией / А.И. Неймарк, И.С. Попов, А.В. Газаматов // Экспериментальная и клиническая урология. - 2013. - № 2. – С. 56-60.

54. Некоторые параметры репродуктивного статуса мальчиков подростков с ожирением / О.Е. Гусева, М.А. Лощенко, О.А. Лебедько, и др. // Дальневосточный медицинский журнал. – 2016. - № 2. – С. 69-74.

55. Нишлаг, Э. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы: монография / Э. Нишлаг, Г.М. Бере; под ред. Э. Нишлага и Г.М. Бере. – Москва: Медицинское информационное агентство, 2005. - 551 с.

56. Оксидативный стресс и патозооспермия / В.В. Евдокимов, О.Б. Жуков, Ю.В. Кастрикин, и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2017. - № 2. – С. 73-77.

57. Окулов А.Б. Детская ли болезнь варикоцеле? / А.Б. Окулов, И.В. Казанская // Детская хирургия. – 2009. - № 4. – С.32-36.

58. Осипова, А.М. Значимость определения концентрации ингибина В в крови у юношей-подростков с заболеваниями органов репродуктивной системы / А.М. Осипова, С.К. Дехтяр, Д.И. Тарусин // Кремлевская медицина: Клинический вестник. – 2016. - № 3. – С.110-113.

59. Особенности мужской инфертильности как единственного фактора бесплодия супружеской пары в клинике ВРТ / А.Н. Сулима, В.В.Литвинов, П.М. Клименко, и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2019. - № 4. - С. 68-73. doi: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-68-73.

60. Особенности полового созревания у мальчиков с ожирением / Е.А. Солодилова, Е.И. Кондратьева, Е.Б. Кравец, и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. - Т. 126, № 3. – С.158-164.
61. Особенности функции эндотелия при хронической болезни почек. Обзор литературы и собственные данные // И.Ю. Панина, А.Ш. Румянцева, М.А. Меншутина, и др. // Нефрология. – 2007. – Т. 11, № 4. – С. 28-46.
62. Охрана репродуктивного здоровья мальчиков и юношей-подростков: информационное письмо Минздрава России. – М., 1999. – 49 с.
63. Петрищев Н.Н. Физиология и патофизиология эндотелия: монография / Н.Н. Петрищев, Т.Д. Власов. - Санкт-Петербург: СПбГМУ. – 2003. – 408 с.
64. Петрищев, Н.Н. Патогенетическое значение эндотелиальной дисфункции / Н.Н. Петрищев // Омский научный вестник. – 2005. – № 13. – С.20-22.
65. Показатели сперматогенеза, гормонального и метаболического статуса у мужчин разных возрастных групп на Европейском севере России / Л.В. Осадчук, М.А. Клещев, Е.В. Типисова, и др. // Физиология человека. – 2019. – Т. 3, № 45. – С. 107-114. doi: 10.1134/S0131164619020073.
66. Потехин, Е.С. Спермограмма как инструмент оценки мужской фертильности / Е.С. Потехин, Е.В. Михайлюк, А.С. Непомнящих // Научное обозрение. – 2020. - №1. – С.11-14.
67. Причины и факторы риска мужской инфертильности / Л.И. Колесникова, С.И. Колесников, Н.А. Курашова, и др. // Вестник РАМН. – 2015. – Т. 7, № 5. - С. 579-584. doi: 10.15690/vramn.v70.i1445.
68. Ранние маркеры дисфункции эндотелия в динамике развития артериальной гипертензии у лиц молодого возраста / С.Д. Маянская, А.Р. Антонов, А.А. Попова А.А., и др. // Казанский медицинский журнал. – 2009. - № 1. – С. 32-37.
69. Реабилитация пациентов с мужским бесплодием после варикоцелеэктомии / А.И. Неймарк, Б.А. Неймарк, А.В. Давыдов, и др. // Урология и нефрология. – 2018. - № 2. – С.8-12.

70. Репродуктивное здоровье детей и подростков, перенесших хирургическую коррекцию в связи с андрологической патологией / С.П. Яцык, Т.А. Каневская, К.С. Абрамов, и др. // Педиатрическая фармакология. – 2009. - Т.6, № 1. - С. 15-22.

71. Роль венозной системы яичек в регуляции половых гормонов в норме и при варикоцеле / Ю.А. Кравцов, В.И. Макаров, З.А. Сечинава и др. // Флебология. – 2012. - № 1. – С. 28-31.

72. Роль синдрома недифференцированной соединительной ткани в рецидивировании варикоцеле / Ю.А. Кравцов, В.И. Макаров, З.А. Сечинава и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2011. - № 3. – С. 92-96.

73. Рыжков, А.И. Фрагментация ДНК сперматозоидов. Есть ли связь с основными параметрами спермы и возрастом? / А.И. Рыжков, И.С. Шорманов, С.Ю. Соколова // Экспериментальная и клиническая урология. – 2020. - № 4. – С. 58-64. doi: 10.29188/2222-8543-2020-13-4-58-64.

74. Связь андрологического статуса подростков с антропометрическими и гормональными показателями / Ю.В. Лутов, В.Г. Селятицкая, Е.А. Епанчинцева, и др. // Физиология человека. – 2014. - Т.40, № 4. - С. 124-131. doi:10.7868/S0131164614040109.

75. Семенов, А.В. К вопросу о влиянии бактериоспермии на качество спермы / А.В. Семенов, Г.М. Пацановская // Паллиативная медицина и реабилитация. – 2008. - № 4. – С.29-33.

76. Сизонов В.В. Варикоцелэктомия у подростков – кого и когда надо оперировать / В.В. Сизонов, А.Г. Макаров, М.И. Коган // Вестник урологии. – 2014. - № 1. – С.41-50.

77. Солодилова, Е.А. Клинико-гормональный статус мальчиков-подростков с ожирением / Е.А. Солодилова, Е.Б. Кравец // Мать и дитя в Кузбассе. - 2011. - Т. 45, № 2. - С. 32-36.

78. Состояние репродуктивной системы и алгоритм решения вопроса деторождения у мужчин с муковисцидозом / С.А. Репина, С.А. Красовский,

Г.В. Шмарина, и др. // Альманах клинической медицины. – 2019. – Т. 47, № 1. - С.26-37. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-001.

79. Супрун, Е.Н. Цитокины и антитела к цитокинам / Е.Н. Супрун // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2015. - № 4. - С. 44-48.

80. Токарев, А.Р. Нейро-цитокиновые механизмы острого стресса / А.Р. Токарев // Вестник новых медицинских технологий: электр. изд. – 2019. - № 3. - С. 194–199. doi: 10.24411/2075-4094-2019-16469.

81. Факторы риска развития мужской инфертильности / А.А. Шмидт, С.А. Замятин, И.С. Гончар, и др. // Клиническая патофизиология. – 2019. - № 4. - С.56-60.

82. Фрейдлин, И.С. Эндотелиальные клетки в качестве мишеней и продуцентов цитокинов / И.С. Фрейдлин, Ю.А. Шейкин // Медицинская иммунология. – 2001. – Т.3, № 4. - С.499-514.

83. Хайрутдинов, К.Н. Мужское бесплодие – проблема XXI века / К.Н. Хайрутдинов, М.Э. Ситдикова, А.Ю. Зубков // Практическая медицина. – 2018. – Т.16, № 6. - С. 185-189. doi: 10.32000/2072-1757-2018-16-6-185-189.

84. Хирургическое лечение варикоцеле у мужчин с бесплодием / С.И. Гамидов, А.А. Павловичев, С.В. Андранович, и др. // Фарматека. – 2010. - № 18-19. – С. 44-48.

85. Хромосомы человека: атлас / А.Ф. Захаров, В.А. Бенюш, Н.П. Кулешов, и др. - Москва: Медицина, 1982. – 236 с.

86. Цитокиновая регуляция экспрессии адгезионных молекул ICAM-1 и продукция хемокина IL-8 эндотелиальными клетками / Д.И. Соколов, С.А. Кузнецова, А.Ю.Котов, и др. // Медицинская иммунология. – 2000. – Т. 2, № 1. – С.25-33.

87. Цитокиновый статус у больных диабетической кардиомиопатией / О.В. Серебрякова, Д.М. Серкин, Ю.В. Бокалова, и др. // Здоровье и образование в XXI веке. – 2017. - Т. 19, № 1. - С. 54-60.

88. Цуман В.Г. Результаты операций при варикоцеле в возрастном аспекте. Метод профилактики и лечения послеоперационного рецидива / В.Г. Цуман // Детская хирургия. – 2007. - № 1. – С.4-7.

89. Черных, В.Б. AZF делеции – частая генетическая причина бесплодия у мужчин: современное состояние проблемы / В.Б. Черных // Проблемы репродукции. - 2009. - № 1. - С.10-15.

90. Шевырин, А.А. Современный взгляд на лечение нарушений мужской фертильной функции / А.А. Шевырин // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2018. - № 12. - С.30-36.

91. Ширшов, В.Н. Современное состояние проблемы мужского бесплодия: обзор клинических рекомендаций европейской ассоциации урологов / В.Н. Ширшов // Клиническая практика. – 2016. - № 1. - С.39-49.

92. Шишкин, А.Н. Дисфункция эндотелия у пациентов с прогрессирующими заболеваниями почек / А.Н. Шишкин, Д.В. Кирилук // Нефрология. – 2005. – Т.9, № 2. – С.16-22.

93. Эндотелиальная дисфункция и методы ее определения / А.И. Мартынова, Г.И. Аветяк, Е.В. Акатова, и др. // Российский кардиологический журнал. – 2005. - № 4. – С. 94-98.

94. Эпидемиологическая оценка факторов риска варикоцеле у подростков / Т.М. Чиркина, Т.А. Душенкова, С.В. Рищук, и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2018. - № 1. – С. 112-116.

95. A case-control study of the factors affecting male infertility / M. Mahboubi, F. Foroughi, F. Ghahramani, et al. // Turk J Med Sci. - 2014. - Vol. 44, № 5. - P. 862-865. doi: 10.3906/sag-1304-35.

96. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology / J.M. Miller, M.J. Binnicker, S. Campbell, et al. // Clin Infect Dis. – 2018. - Vol. 67, № 6 - e1-e94. doi: 10.1093/cid/ciy381.

97. A novel protein biochip screening serum anti-sperm antibody expression and natural pregnancy rate in a follow-up study in Chinese infertility / F. Xu, L Ye, Yu Hu, et al. // *Biosci Rep.* – 2020. - Vol. 40, № 2: BSR20191769 doi: 10.1042/BSR20191769.
98. Abrol, N. Painful varicoceles: Role of varicocelectomy / N. Abrol, A. Panda, N.S. Kekre // *Indian J Urol.* – 2014. - Vol. 30, № 4. - P. 369-373.
99. Agarval, A. Varicocele and male infertility: current concepts and future perspectives / A. Agarval, S.C. Esteves // *Asian J Androl.* – 2016. – Vol. 18, № 2. – P. 161-162. doi:10.4103/1008-682X.172819.
100. Ahuja, A.K. Homology between cattle bull sperm and bacterial antigenic proteins viz a viz possible role in immunological infertility / A.K. Ahuja, R.S. Cheema // *Reprod Domest Anim.* – 2018. - Vol. 53, № 6. – P. 1530-1538. doi: 10.1111/rda.13292.
101. Alkaram, A. Varicocele and its effect on testosterone: implications for the adolescent / A. Alkaram, A. McCullough // *Transl Androl Urol.* - 2014. - Vol. 3, № 4. - P. 413-417. doi: 10.3978/j.issn.2223-4683.2014.12.07.
102. Anti-ACTL7a antibodies: a cause of infertility / J. Fu, Y. Wang, K.L. Fok, et al. // *Fertil Steril.* – 2012. - Vol. 97, № 5. – P. 1226-33. e1-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.02.023.
103. Antibiotics Versus Natural Biomolecules: The Case of In Vitro Induced Bacteriospermia by *Enterococcus Faecalis* in Rabbit Semen / M. Duracka, N. Lukac, M. Kacaniova, et al. // *Molecules.* – 2019. - Vol. 24, № 23. - e 4329. doi: 10.3390/molecules24234329.
104. Antioxidants for male subfertility / R.M. Smits, R. Mackenzie-Proctor, A. Yazdani, et al. // *Cochrane Database. Syst Rev.* – 2019. – Vol. 3, № 3: CD007411. doi: 10.1002/14651858.CD007411.pub4.
105. Anti-sperm antibodies detection by a modified MAR test: Towards a better definition of its indications / N. Gatimel, J. Moreau, F. Isus, et al. // *Reprod Biomed Online.* – 2018. - Vol. 37, № 6. - P. 717-723. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.09.011.
106. Antisperm antibodies in infertile men and their effect on semen parameters: a systematic review and meta-analysis / D. Cui, G. Han, Y. Shang, et al. // *Clin Chim Acta.* – 2015. - Vol. 15, № 444, P. 29-36. doi: 10.1016/j.cca.2015.01.033.

107. Application of computer-aided sperm analysis (CASA) for detecting sperm-immobilizing antibody / Y. Wakimoto, A. Fukui, T. Kojima, et al. // *Am J Reprod Immunol.* – 2018. - Vol. 79, № 3. doi: 10.1111/aji.12814.

108. Aquaporin-9 immunohistochemistry in varicocele testes as a consequence of hypoxia in the sperm production site / S. Arena, F. Arena, D. Maisano, et al. // *Andrologia.* – 2011. - Vol. 1, № 43. - P. 34-37.

109. Arterial Hypertension and Interleukins: Potential Therapeutic Target or Future Diagnostic Marker? / D.M Tanase, E.M. Gosav, S. Radu, et al. // *Int J Hypertens.* – 2019. - 2019: 3159283. doi: 10.1155/2019/3159283.

110. Assessing the prevalence of *Staphylococcus aureus* in infertile male patients in Tabriz, northwest Iran / A. Esmailkhani, M. T. Akhi, J. Sadeghi, et al. // *Int J Reprod Biomed.* – 2018. - Vol. 16, № 7. - P. 469–474. doi: 10.29252/ijrm.16.7.469.

111. Associated factors with male infertility: a case control study / M.R. Ahmadi, M. Yasemi, H. Peyman, et al. // *J Clin Diagn Res.* – 2014. - Vol. 8, № 9. - P. 11-13.

112. Association between socio-psycho-behavioral factors and male semen quality: systematic review and meta-analyses / Y. Li, H. Lin, J. Cao, et al. // *Fertil Steril.* – 2011. - Vol. 95, № 1. – P. 116-223. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.06.031.

113. Association of decreased spermatozoa omega-3 fatty acid levels and increased oxidative DNA damage with varicocele in infertile men: a case control study / L.X. Tang, D.J. Yuan, Q.L. Wang, et al. // *Reprod Fertil Dev.* - 2016. - Vol. 28, № 5. - P. 648-55. doi: 10.1071/RD14276.

114. Association, prevalence, and clearance of human papillomavirus and antisperm antibodies in infected semen samples from infertile patients / A. Garolla, D. Pizzol, A. Bertoldo, et al. // *Fertil Steril.* – 2013. - № 99. – P. 125–31. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.006.

115. Bach, P.V. Varicocele – a case for early intervention / P.V Bach, B.B. Najari, M. Goldstein // *F1000Res.* - 2016. - 22; 5. pii: F1000 Faculty Rev-1792. doi: 10.12688/f1000research.7179.1.

116. Bacteriospermia, extended spectrum beta lactamase producing Gram-negative bacteria and other factors associated with male infertility in Mwanza, Tanzania: a need

of diagnostic bacteriology for management of male infertility / V. Silago, Y. Mukama, A.L. Haule, et al. // *Afr Health Sci.* – 2020. - Vol. 20, № 1. - P. 4–13. doi: 10.4314/ahs.v20i1.4.

117. Balanced complex chromosome rearrangement in male infertility: case report and literature review / M.H. Nguyen, F. Morel, P. Pennamen, et al. // *Andrologia.* – 2015. – Vol. 47, № 2. – P. 178-85. doi:10.1111/and.12245.

118. Băncescu, G. Streptococcus anginosus group - brief characterization and its contribution to the brain abscess pathogenesis / G. Băncescu, A. Băncescu, M.V. Constantinescu // *Stoma Edu J.* - 2015. – Vol. 2, № 2. - P. 153-161. [https://doi.org/10.25241/stomaeduj.2015.2\(2\).art.8](https://doi.org/10.25241/stomaeduj.2015.2(2).art.8).

119. Barati, E. Oxidative Stress and Male Infertility: Current Knowledge of Pathophysiology and Role of Antioxidant Therapy in Disease Management / E. Barati, H. Nikzad, M. Karimian // *Cell Mol Life Sci.* – 2020. - Vol. 77, № 1. - P. 93-113. doi: 10.1007/s00018-019-03253-8.

120. Barratt, C.L.R. The diagnosis of male infertility: an analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance-challenges and future research opportunities / C.L.R Barratt, L. Björndahl, C.J. De Jonge // *Hum Reprod Update.* – 2017. - Vol. 23, № 6. – P. 660-680. doi: 10.1093/humupd/dmx021.

121. Berjis, K. Study of seminal infection among an infertile male population in Qom, Iran, and its effect on sperm quality / K. Berjis, M. Ghiasi // *Iran J Microbiol.* – 2018. - Vol. 10, № 2. - P. 111–116. <http://ijm.tums.ac.ir>.

122. Best practice in the diagnosis and treatment of varicocele in children and adolescents / M.R. Macey, R.C. Owen, S.S. Ross, et al. // *Ther Adv Urol.* – 2018. - Vol.10, № 9. – P.273–282. doi: 10.1177/1756287218783900.

123. Bibliometrics and visualisation analysis of literature on varicocele: From 2002 to 2021 / B. Bao, M. Ke, J. Guo, et al. // *Andrologia.* – 2022. - Vol. 54, № 10. - e14537. doi: 10.1111/and.14537.

124. Bieniek, J.M. Seminal biomarkers for the evaluation of male infertility / J.M. Bieniek, A.P. Drabovich, K.C. Lo // *Asian J Androl.* – 2016. - Vol. 18, № 3. – P. 426-33. doi: 10.4103/1008-682X.175781.

125. Biochemistry of infertility / T. Wasilewski, M. Łukaszewicz-Zajac, J. Wasilewska, et al. // *Clinica Chimica Acta*. – 2020. - № 508. – P.185–190. doi: 10.1016/j.cca.2020.05.039.
126. Body Mass Index and Age Correlate with Antioxidant Supplementation Effects on Sperm Quality: Post Hoc Analyses From a Double-Blind Placebo-Controlled Trial / G.M. Busetto, F. Del Giudice, A. Virmani, et al. // *Andrologia*. - 2020. - Vol. 52, № 3. - e13523. doi: 10.1111/and.13523.
127. Bohring, C. Differences in the antigen pattern recognized by antisperm antibodies in patients with infertility and vasectomy / C. Bohring, W. Krause // *J Urol*. – 2001. - Vol. 166, № 3. – P. 1178-80.
128. Bonyadi, M.R. Effects of Varicocele on Anti-sperm Antibody in Patients with Varicocele / M.R Bonyadi, S.K. Madaen, M. Saghafi // *J Reprod Infertil*. – 2013. - Vol. 2, № 14. - P. 73-78.
129. Bozhedomov, V.A. Epidemiology and causes of autoimmune male infertility / V.A. Bozhedomov, O.V. Teodorovich // *Urology*. – 2005. - № 1. – P. 35-44.
130. Bozhedomov, V.A. Male fertility and varicocele: role of immune factors / V.A. Bozhedomov, N.A. Lipatova, I.M. Rokhlikov // *Andrology*. – 2014. – Vol. 2, № 1. - P. 51-58. doi: 10.1111/j.2047-2927.2013.00160.x.
131. Brannigan, R.E. Introduction: Varicoceles: A Contemporary Perspective / R.E. Brannigan // *Fertil Steril*. - 2017. - Vol. 108, № 3. – P. 361-363. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.07.1161.
132. Cakiroglu, B. The effect of varicocele on sperm parameters in subfertile men with clinical varicoceles who have asthenozoospermia or teratozoospermia with normal sperm density / B. Cakiroglu, O. Sinanoglu, R. Gozukucuk // *ISRN Urol*. – 2013. doi: 10.1155/2013/698351.
133. Can preoperative inflammatory markers predict the success of varicocele? / M.B. Duran, Y. Kizilkan, S. Senel, et al. // *Andrologia*. – 2022. - Vol. 54, № 9. – P. e14514. doi: 10.1111/and.14514. Epub 2022. Jun 26.
134. Can Seminal IL-8 Level Be Used as a Marker of Leukocytospermia and Does It Have Any Correlation with Semen Parameters in Infertile Couples? / P. Saxena,

R. Soni, V.S. Randhawa, et al. // *J Obstet Gynaecol India*. – 2019. - Vol. 69, № 5. – P.451-456. doi: 10.1007/s13224-018-1188-3.

135. Çayan, S. Update on the novel management and future paternity situation in adolescents with varicocele / S. Çayan, M. Bozlu, E. Akbay // *Turk J Urol*. – 2017. - Vol. 43, № 3. - P. 241–246. doi: 10.5152/tud.2017.01033.

136. Chamley, L.W. Antisperm antibodies and conception / L.W. Chamley, G.N. Clarke // *Semin Immunopathol*. – 2007. – Vol. 29, № 2, - P.169-84. doi: 10.1007/s00281-007-0075-2.

137. Changes in Inflammatory Cytokines Accompany Deregulation of Claudin-11, Resulting in Inter-Sertoli Tight Junctions in Varicocele Rat Testes / Y.S. Oh, N.H. Jo, J.K. Park, et al. // *J Urol*. – 2016. – Vol.196, №4. – P.1303-12. doi: 10.1016/j.juro.2016.05.004.

138. Chen, S.S. Predictive factors of successful redo varicocelectomy in infertile patients with recurrent varicocele / S.S. Chen // *Andrologia*. – 2014. - Vol. 46, № 7. - P. 748-743.

139. Children and Adults varicocele: diagnostic issues and therapeutical strategies / M. Valentino, M. Bertolotto, L. Derchi, et al. // *J Ultrasound*. – 2014. - Vol. 17, № 3. - P. 185-193. doi: 10.1007/s40477-014-0088-3.

140. Cho, C.L. Indications and outcomes of varicocele repair / C.L. Cho, S.C. Esteves, A. Agarwal // *Panminerva Med*. – 2019. - Vol.61, № 2. - P.152-163. doi: 10.23736/S0031-0808.18.03528-0.

141. Cho, C.L. Novel insights into the pathophysiology of varicocele and its association with reactive oxygen species and sperm DNA fragmentation / C.L. Cho, S.C. Esteves, A. Agarwal // *Asian J Androl*. - 2016. – Vol.18, № 2. - P. 186-93. doi: 10.4103/1008-682X.170441.

142. Cho, K.S. Effect of varicocelectomy on male infertility / K.S. Cho, J.T. Seo // *Korean J Urol*. – 2014. - Vol. 55, № 11. - P. 703-709.

143. Cholinergic neural activity directs retinal layer-specific angiogenesis and blood retinal barrier formation / G.A. Weiner, S.H. Shah, C.M. Angelopoulos, et al. // *Nat Commun*. – 2019. - Vol. 10, № 1. – P. 2477. doi: 10.1038/s41467-019-10219-8.

144. Chung, J.M. Current Issues in Adolescent Varicocele: Pediatric Urological Perspectives / J.M. Chung, S.D. Lee // *World J Mens Health*. – 2018. - Vol. 36, № 2. – P. 123–131. doi: 10.5534/wjmh.170053.

145. Cicigoi, A. Early diagnosis and correct treatment of varicocele in puberty / A. Cicigoi, M. Bianchi // *Arch Ital Urol Nefrol Androl*. – 1991. - Vol. 63, № 4. - P.409-413.

146. Cysteinyl leukotriene receptor type 1 (CysLT1R) antagonist zafirlukast protects against TNF α -induced endothelial inflammation / X. Zhou, J. Cai, W. Liu, et al. // *Biomed Pharmacother*. – 2019. - № 111. – P.452-459. doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.064.

147. Clark, S. Presence and incidence of izumo antibodies in sera of immunoinfertile women and men / S. Clark, R.K. Naz // *Am J Reprod Immunol*. – 2013. - Vol. 69, № 3. - P. 256-63. doi: 10.1111/aji.12060.

148. Clinical and hormonal studies of subfertile males with varicocele / S.M. Girgis, M.I. Abdalla, I.I. Ibrahim, et al. // *Arch Androl*. – 1981 - Vol. 6, № 3. - P. 267-271.

149. Clinical and laboratory profiles of large cohort of patients with different grades of varicocele / B.M. Al-Ali, R. Shamloul, M. Pichler, et al. // *Cent European J Urol*. – 2013. - T. 1, № 66. – P. 71-74 doi: 10.5173/cej.2013.01art22.

150. Clinical outcome of pediatric and young adult subclinical varicoceles: a single-institution experience / P.S. Cho, R.N. Yu, H. J Paltiel, et al. // *Asian J Androl*. – 2021. - Vol. 23, № 6. - P. 611–615. doi: 10.4103/aja.aja_22_21.

151. Colaco, S. Genetics of human Y chromosome and its association with male infertility / S. Colaco, D. Modi // *Reprod Biol Endocrinol*. – 2018. - Vol. 16, № 1. - P. 14. doi: 10.1186/s12958-018-0330-5.

152. Comparison of recombinant human follicle stimulating hormone (rhFSH), human chorionic gonadotropin (HCG) and human menopausal gonadotropin (HMG) on semen parameters after varicocelectomy: a randomized clinical trial / M.A. Amirzargar, M. Yavangi, A. Basiri, et al. // *Iran J Reprod Med*. – 2012. - Vol. 10, № 5. - P. 441-452.

153. Comparison of successful and unsuccessful islet/Sertoli cell cotransplant grafts in streptozotocin-induced diabetic mice / J.M. Dufour, S.J. Lord, T. Kin, et al. // *Cell Transplant.* – 2007. - Vol. 16, № 10. - P. 1029-1038. doi: 10.3727/000000007783472417.

154. Comparison of the demographics, semen parameters and hormone profiles in men with primary and secondary infertility / V. Gowri, K.P. Venkiteswaran, I. Al-Zakwani, et al. // *Sultan Qaboos Univ Med J.* – 2010. - Vol.10, № 3. - P. 350-353.

155. Comprehensive Analysis of Global Research on Human Varicocele: A Scientometric Approach / A. Agarwal, R. Finelli, D. Durairajanayagam, et al. // *World J Mens Health.* – 2022. – Vol. 40, № 4. - P. 636-652. doi: 10.5534/wjmh.210202.

156. Conservative Nonhormonal Options for the Treatment of Male Infertility: Antibiotics, Anti-Inflammatory Drugs, and Antioxidants / A.E. Calogero, R.A. Condorelli, G.I. Russo, et al. // *Biomed Res Int.* – 2017. Published online. doi:10.1155/2017/4650182.

157. Contemporary evidence on the physiological role of reactive oxygen species in human sperm function / S.S. Du Plessis, A. Agarwal, J. Halabi, et al. // *J Assist Reprod Genet.* – 2015. - Vol. 32, № 4. - P.509-520. doi: 10.1007/s10815-014-0425-7.

158. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Cytokine Storms for More Effective Treatments from an Inflammatory Pathophysiology / S. Yokota, T. Miyamae, Y. Kuroiwa, et al. // *J Clin Med.* – 2021. - Vol. 10, № 4. - P. 801. doi: 10.3390/jcm10040801.

159. Correlation of bilateral testicular volume discrepancy with semen parameters in men with varicocele / J.X. Lu, L.L. Wang, Y.H. Huang, et al. // *Zhonghua Nan Ke Xue.* – 2011. - Vol. 17, № 12. - P. 1104-1107.

160. Correlation Between Testicular Hemodynamic and Semen Quality Indices in Clinical Varicocele Patients in Pakistan / K.U. Rehman, H. Zaneb, A.B. Qureshi, et al. // *Biomed Res Int.* – 2019: 7934328. doi: 10.1155/2019/7934328.

161. Correlation between Y chromosome microdeletion and male infertility / X.G. Liu, H.Y. Hu, Y.H. Guo, et al. // *Y.H., Genet Mol Rec.* – 2016. – Vol. 15, № 2. - gmr.15028426. doi: 10.4238/gmr.15028426.

162. *Corynebacterium glucuronolyticum* causing genitourinary tract infection: Case report and review of the literature / G. Gherardi, G. Di Bonaventura, A. Pompilio, et al. // *IDCases*. – 2015. - Vol. 2, № 2. - P. 56-58.

163. Cytokines in CAR T Cell-Associated Neurotoxicity / J. Gust, R. Ponce, W.C. Liles, et al. // *Front Immunol*. - 2020; 11: 577027. doi: 10.3389/fimmu.2020.577027.

164. Cytokines in the blood and semen of infertile patients / A. Havrylyuk, V. Chopyak, Y. Boyko, et al. // *Cent Eur J Immunol*. – 2015. - Vol. 40, № 3. – P.337–344. doi: 10.5114/ceji.2015.54596.

165. Dabaja, A.A. When is a varicocele repair indicated: the dilemma of hypogonadism and erectile dysfunction? / A.A. Dabaja, M. Goldstein // *Asian J Androl*. - 2016. - Vol. 18, № 2. - P. 213-216. doi: 10.4103/1008-682X.169560.

166. De la Torre, B. Studies on the relationship between sperm count and steroid levels in the spermatic and cubital veins of patients with varicocele / B. De la Torre, S. Noren, M. Hedman // *Int J of Andrology*. – 2008. – Vol.1, № 1-6. – P. 297-307. doi: 10.1111/j.1365-2605.1978.th00601.x.

167. Diagnosis and classification of autoimmune orchitis / C.A. Silva, M. Cocuzza, J.F. Carvalho, et al. // *Autoimmunity Reviews*. – 2014. - Vol. 13, № 4-5. - P. 431–434. doi: 10.1016/j.autrev.2014.01.024.

168. Differential proteomic profiling of spermatozoal proteins of infertile men with unilateral or bilateral varicocele / A. Agarwal, R. Sharma, D. Durairajanayagam, et al. // *Urology*. – 2015. - Vol. 85, № 3. - P. 580-588.

169. Distribution of Human Papillomavirus and Antisperm Antibody in Semen and Its Association with Semen Parameters Among Infertile Men / A. Piroozmand, S.D.M. Nasab, M. Erami, et al. // *J Reprod Infertil*. - 2020. - Vol. 21, № 3. - P. 183-188.

170. Distribution of Semen Parameters Among Adolescent Males Undergoing Fertility Preservation in a Multicenter International Cohort / J.A. Halpern, T. Thirumavalavan, T.P. Kohn, et al. // *Urology*. - 2019. - № 127. - P. 119-123. doi: 10.1016/j.urology.2019.01.027.

171. Diversity of antisperm antibodies bound to sperm surface in male immunological infertility / H. Shibahara, T. Tsunoda, A. Taneichi, et al. // *Am J Reprod Immunol.* – 2002. - Vol. 47, № 3. – P.146-50. doi: 10.1034/j.1600-0897.2002.1o059.x.

172. Do assisted reproduction outcomes differ according to aetiology of obstructive azoospermia? / L.S. Lopes, V.N. Cury, J.D. Cha, et al. // *Andrologia.* – 2020. - Vol. 52, № 1: e13425. doi: 10.1111/and.13425.

173. Dörr, H. Are antisperm antibodies indeed sperm-specific? / H. Dörr, C. Bohring, W. Krause // *Andrologia.* – 2005. - Vol. 37, № 5. - P. 185-7. doi: 10.1111/j.1439-0272.2005.00675.x.

174. Effect of body mass index on severity and prevalence of varicocele / K. Hassanzadeh, P. Yavari-Kia, H. Soleymanpour, et al. // *Pak J Biol Sci.* – 2011. - Vol. 14, № 18. - P.869-875.

175. Effect of low-dose ketamine on post-operative serum IL-6 production among elective surgical patients: a randomized clinical trial / T.S. Luggya, T. Roche, L. Ssemogerere, et al. // *Afr Health Sci.* – 2017. - Vol. 17, № 2. – P. 500-507. doi: 10.4314/ahs.v17i2.25.

176. Effect of smoking on the functional aspects of sperm and seminal plasma protein profiles in patients with varicocele / R.M. Fariello, J.R. Pariz, D.M. Spaine, et al. // *Hum Reprod.* – 2012. - Vol. 27, № 11. - P. 3140-3149.

177. Effect of surgical repair on testosterone production in infertile men with varicocele: a meta-analysis / F. Li, H. Yue, K. Yamaguchi, et al. // *Int J Urol.* – 2012. - Vol. 19, № 2. - P. 149-154. doi: 10.1111/j.1442-2042.2011.02890.x.

178. Effect of varicocelectomy on testis volume and semen parameters in adolescents: a meta-analysis / T. Zhou, W. Zhang, Q. Chen, et al. // *Asian J Androl.* – 2015. - Vol. 17, № 6. - P. 1012-1016. doi: 10.4103/1008-682X.148075.

179. Effects of varicocele on serum testosterone and changes of testosterone after varicocelectomy: a prospective controlled study / T.A. Abdel-Meguid, H.M. Farsi, A. Al-Sayyad, et al. // *Urology.* – 2014. - Vol. 84, № 5. - P. 1081-1087.

180. Eid, A.A. Seminal Tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and its relationship to infertility in Egyptian patients with varicocele / A.A. Eid, D.N. Younan // *Andrologia*. – 2015. - Vol. 47, № 9. - P.1028-33. doi: 10.1111/and.12373.

181. Eid, R.A. Ultrastructural changes of smooth muscles in varicocele veins / R.A. Eid, K. Radad, M. Al-Shraim // *Ultrastruct Pathol*. – 2012. - Vol. 36, № 4. - P. 201-206. doi: 10.3109/01913123.2011.637663.

182. Eisenberg, M.L. Varicocele-induced infertility: newer insights into its pathophysiology / M. L Eisenberg, L.I. Lipshultz // *Indian J Urol*. – 2011. - Vol. 27, № 1. – P.58-64. doi: 10.4103/0970-1591.78428.

183. Elevation of both reactive oxygen species and antioxidant enzymes in vein tissue of infertile men with varicocele / B. Altunoluk, E. Efe, E.B. Kurutas, et al. // *Urol Int*. – 2012. - Vol. 88, № 1. - P. 102-106.

184. Endothelial injury is closely related to osteopontin and TNF receptor-mediated inflammation in end-stage renal disease / K. Batko, M. Krzanowski, M. Gajda, et al. // *Cytokine*. – 2019. - 121: 154729. doi: 10.1016/j.cyto.2019.05.016.

185. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases / Y. Higashi, K. Noma, M. Yoshizumi, et al. // *Circulation J*. – 2009. – № 6. – P. 411-415.

186. Epididymal more than testicular abnormalities are associated with the occurrence of antisperm antibodies as evaluated by the MAR test / F. Lotti, E. Baldi, G. Corona, et al. // *Hum Reprod*. - 2018. - Vol. 33, № 8. – P. 1417-1429. doi: 10.1093/humrep/dey235.

187. Esfahani, M.H. Origin and role of DNA damage in varicocele / M.H. Esfahani, M. Tavalae // *Int J Fertil Steril*. – 2012. - Vol. 6, № 3. - P. 141-146.

188. Esteves, S.C. Afterword to varicocele and male infertility: current concepts and future perspectives / S.C Esteves, A. Agarwal // *Asian J Androl*. – 2016. - Vol. 18, № 2. – P. 319–322. doi: 10.4103/1008-682X.172820. PMID: 26780876.

189. Esteves, S.C. Novel concepts in male factor infertility: clinical and laboratory perspectives / S.C Esteves // *J Assist Reprod Genet*. – 2016. - Vol. 33, № 10. - P. 1319-1335. doi: 10.1007/s10815-016-0763-8.

190. Evaluation of inguinoscrotal pathologies among adolescents with special emphasis on association between varicocele and body mass index / C. Yigitler, H. Yanardag, E. Silit, et al. // *Urol J.* – 2012. - Vol. 9, № 3. - P.592-599.

191. Evaluation of Serum Testosterone, Progesterone, Seminal Antisperm Antibody, and Fructose Levels among Jordanian Males with a History of Infertility / H.I. Al-Daghistani, A.W. Hamad, M. Abdel-Dayem, et al. // *Biochem Res Int.* – 2010. - Epub. doi: 10.1155/2010/409640.

192. Evaluation of sperm DNA fragmentation index, Zinc concentration and seminal parameters from infertile men with varicocele / T.T. Nguyen, T.S. Trieu, T.O. Tran, et al. // *Andrologia.* - 2019. -. Vol. 51, № 2. - e13184. doi: 10.1111/and.13184.

193. Experimental varicocele in rats affects mechanisms that control expression and function of the androgen receptor / T.S. Soares, S.A. Fernandes, M.L. Lima, et al. // *Andrology.* – 2013. - Vol. 1, № 5. - P. 670-681. doi: 10.1111/j.2047-2927.2013.00103.x.

194. Expression and Subcellular Localization of Retinoic Acid Receptor- α (RAR α) in Healthy and Varicocele Human Spermatozoa: Its Possible Regulatory Role in Capacitation and Survival / I. Perrotta, M. Perri, M. Santoro, et al. // *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* – 2015. - Vol. 23, № 5. - P. 374-81. doi: 10.1097/PAI.0000000000000093.

195. Expression of cyclooxygenase-1 (COX-1) and COX-2 in human male gametes from normal patients, and those with varicocele and diabetes: a potential molecular marker for diagnosing male infertility disorders / I. Perrotta, M. Santoro, C. Guido, et al. // *J Anat.* – 2012. - Vol. 221, № 3. - P. 209-220. doi: 10.1111/j.1469-7580.2012.01534.x.

196. Expression of Hypoxia-Inducible Factor1- α in Varicocele Disease: a Comprehensive Systematic Review / A. Babaei, S. Moradi, Z. Hoseinkhani, et al. // *Reprod Sci.* – 2021. - Online ahead of print. doi: 10.1007/s43032-021-00696-y.

197. Expressions of miR-15a and its target gene HSPA1B in the spermatozoa of patients with varicocele / Z. Ji, R. Lu, Y.G. Duan, et al. // *Reproduction.* – 2014. - Vol. 147, № 5. - P. 639-701. doi: 10.1530/REP-13-0656.

198. External and Genetic Conditions Determining Male Infertility / P. Kamiński, J. Baszyński, I. Jerzak, et al. // *Int J Mol Sci.* – 2020. - Vol. 21, № 15. - P. 5274. doi: 10.3390/ijms21155274.
199. Fang, J. Molecular regulation of arteriovenous endothelial cell specification / J. Fang, K. Hirschi // *F1000Res.* – 2019. 29; 8: F1000 Faculty Rev-1208. doi: 10.12688/f1000research.16701.1.
200. Features of the metabolic syndrome in late adolescence are associated with impaired testicular function at 20 years of age / R.J. Hart, D.A. Doherty, T.A. Mori, et al. // *Hum Reprod.* - 2019. - Vol. 34, № 3. - P.389-402. doi: 10.1093/humrep/dey371.
201. Fine, R.G. Varicocele: standard and alternative indications for repair / R.G. Fine, D.P. Poppas // *Curr Opin Urol.* – 2012. - Vol. 22, № 6. - P. 513-516.
202. Fisch, H. Varicocele repair for low testosterone / H. Fisch, G. Hyun // *Curr Opin Urol.* – 2012. - Vol. 22, № 6. - P. 495-498.
203. Focal ischemic stroke leads to lung injury and reduces alveolar macrophage phagocytic capability in rats / C.S. Samary, A.B. Ramos, L.A. Maia, et al. // *Crit Care.* – 2018. – Vol. 22, № 1. - P. 249. doi: 10.1186/s13054-018-2164-0.
204. Fraczek, M. Cytokines in the male reproductive tract and their role in infertility disorders / M. Fraczek, M. Kurpisz // *J Reprod Immunol.* – 2015. - № 108. – P. 98-104. doi: 10.1016/j.jri.2015.02.001.
205. Genetics and epigenetics of varicocele pathophysiology: an overview / V.P. Santana, C.L. Miranda-Furtado, F.G. de Oliveira-Gennaro, et al. // *J Assist Reprod Genet.* – 2017. - Vol. 34, № 7. - P. 839–847. doi: 10.1007/s10815-017-0931-5.
206. Glutathione-S-transferase-oxidative stress relationship in the internal spermatic vein blood of infertile men with varicocele / T. Mostafa, L.A. Rashed, A.S. Zeidan, et al. // *Andrologia.* – 2015. - Vol. 47, № 1. - P. 47-51. doi: 10.1111/and.12234.
207. Glutathione S-transferase T1: a potential marker for the selection of varicocelectomy in infertile male patients with varicocele / Q.-F. Wu, K.-F. Tang, J.-H. Sun, et al. // *Asian J Androl.* – 2015. – Vol. 17, № 5. – P. 859-860. doi: 10.4103/1008-682X.149179.

208. Guerra, G. Circulating Endothelial Progenitor Cells Biology and Regenerative Medicine in Pulmonary Vascular Diseases / G. Guerra, F. Perrotta, G. Testa // *Curr Pharm Biotechnol.* – 2018. - Vol. 19, № 9. – P. 700-707. doi: 10.2174/1389201019666181017161752.

209. Guzik, T.J. Vascular NADPH oxidases as drug targets for novel antioxidant strategies / T.J. Guzik, D.G. Harrison // *Drug Discovery Today.* – 2006. – Vol. 11, № 11-12. – P. 524-533. doi: 10.1016/j.drudis.2006.04.003.

210. Hassanin, A.M. A Global View of the Pathophysiology of Varicocele / A.M. Hassanin, H.H. Ahmed, A.N. Kaddah // *Andrology.* – 2018. – Vol. 6, № 5. – P. 654-661. doi: 10.1111/andr.12511.

211. Hayden, R.P. The role of lifestyle in male infertility: diet, physical activity, and body habitus / R.P. Hayden, R. Flannigan, P.N. Schlegel // *Curr Urol Rep.* – 2018. - Vol.19, №7. - P.56. doi: 10.1007/s11934-018-0805-0.

212. High ligation of the spermatic vein and sperm DNA fragmentation / Y.Y. Hu, L.Z. Lin, C.D. Li, et al. // *Zhonghua Nan Ke Xue.* – 2011. - Vol. 17, № 10. - P. 897-901.

213. High prevalence of urogenital infection/inflammation in patients with azoospermia does not impede surgical sperm retrieval / A. Pilatz, J. Kilb, H. Kaplan, et al. // *Andrologia.* – 2019. - Vol. 51, № 10. - e13401. doi: 10.1111/and.13401.

214. High total acrosin activity in varicocele individuals / E. Navaeian-Kalat, M.R. Deemeh, M. Tavalaei, et al. // *Andrologia.* – 2012. - Vol. 44, № 1. – P. 634-41. doi: 10.1111/j.1439-0272.2011.01242.x.

215. Histologic evaluation of spermatic veins in patients with varicocele / N. Tanji, T. Fujimara, H. Kaji, et al. // *Int J Urol.* – 1999. - Vol. 6, № 7. – P. 355-360. doi: 10.1046/j.1442-2042.1999.00076.x.

216. Hulusi, B. Z. Antisperm antibodies: fact or fiction? / B.Z. Hulusi, H. Yarali // *Immunol Allergy Clin N Am.* – 2002. - Vol. 22, № 3. – P. 471–501. doi: 10.1016/S0889-8561(02)00010-3.

217. Human sperm anatomy and endocrinology in varicocele: role of androgen receptor / C. Guido, M. Santoro, F. De Amicis, et al. // *Reproduction.* – 2014. - Vol. 147, № 5. - P. 589-598.

218. Immune regulatory molecules as modifiers of semen and fertility: A review / S.S. Archana, S. Selvaraju, B.K. Binsila, et al. // *Mol Reprod Dev.* – 2019. - Vol. 86, № 11. P. 1485-1504. doi: 10.1002/mrd.23263.

219. Immunoexpression of aquaporin-1 in adolescent varicocele testes: possible significance for fluid reabsorption / P.A. Nicòtina, C. Romeo, S. Arena, et al. // *Urology.* – 2005. - Vol. 65, № 1. - P. 149-152. doi: 10.1016/j.urology.2004.08.014.

220. Impact of asymptomatic genital tract infections on in vitro Fertilization (IVF) outcome / S. Ricci, S. De Giorgi, E. Lazzeri, et al. // *PLoS One.* - 2018. - Vol.13, № 11: e0207684. doi: 10.1371/journal.pone.0207684.

221. Impact of leukocytospermia on sperm dynamic motility parameters, DNA and chromosomal integrity / A. Moubasher, H. Sayed, E. Mosaad, et al. // *Cent European J Urol.* - 2018. - Vol. 71, № 4. – P. 470–475. doi: 10.5173/ceju.2018.1724.

222. Impact of varicocele on biological markers of gonadal function / E. Blevrakis, E. Chatzidarellis, D. Anyfantakis, et al. // *Hernia.* – 2016. - Vol. 20, №3. – P. 435-439. doi: 10.1007/s10029-015-1361-x.

223. Increased risk of incident chronic medical conditions in infertile men: analysis of Unated States claims data / M. L Eisenberg, S.Li, M.R. Cullen, et al. // *Fertil Steril.* – 2016. - Vol. 105, № 3. - P. 629-636. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.11.011.

224. Increased sperm DNA damage in experimental rat varicocele model and the beneficial effect of varicocelectomy / M.İ. Oztürk, O. Koca, M.O. Keleş, et al. // *Int J Fertil Steril.* – 2012. - Vol. 6, № 2. - P. 95-100.

225. Increases in interleukin-6 and interferon-gamma levels is progressive in immature rats with varicocele / B. Habibi, B. Seifi, S. M-H. N. Mougahi, et al. // *Ir J Med Sci.* – 2015. - Vol. 184, № 2. – P.531-7. doi: 10.1007/s11845-014-1167-3.

226. Infectious, inflammatory and 'autoimmune' male factor infertility: how do rodent models inform clinical practice? / M. Fijak, A. Pilatz, M. P. Hedger, et al. // *Hum Reprod Update.* - 2018. - Vol. 24, № 4. - P. 416-441. doi: 10.1093/humupd/dmy009.

227. Inflammatory and Anti- Inflammatory Cytokines in the Seminal Plasma of Infertile Men Suffering from Varicocele / M. Zeinali, A.H. Amree, H. Khorramdelazad, et al. // *Andrologia.* – 2017. – Vol. 49, № 6. doi: 10.1111/and. 12685.

228. Jiang, H. Testicular microlithiasis is not a risk factor for the production of antisperm antibody in infertile males / H. Jiang, W.J. Zhu // *Andrologia*. – 2013. - Vol. 45, № 5. – P. 305-9. doi: 10.1111/and.12002.

229. Jue, J.S. Significance of positive semen culture in relation to male infertility and the assisted reproductive technology process / J.S. Jue, R. Ramasamy // *Transl Androl Urol*. – 2017. – Vol. 6, № 5. - P. 916–922. doi: 10.21037/tau.2017.06.23

230. Kaminsky, A. Varicocele in adolescents / A. Kaminsky, H. Sperling // *Urologe A*. – 2014. - Vol. 53, № 2. - P. 213-217. doi: 10.1007/s00120-013-3384-1.

231. Khosravian, N. Testosterone and vitamin E administration up-regulated varicocele-reduced Hsp70-2 protein expression and ameliorated biochemical alterations / N. Khosravian, M. Razi, F. Farokhi // *J Assist Reprod Genet*. – 2014. – Vol. 31, № 3. - P. 341-354. doi: 10.1007/s10815-013-0165-0.

232. Kumar, M. Sperm and Seminal Plasma Proteomics: Molecular Changes Associated With Varicocele-Mediated Male Infertility / M. Kumar, A. Agarwal // *World J Mens Health*. – 2020. – Vol. 38, № 4. - P. 472-483. doi: 10.5534/wjmh.190018.

233. Kwon, C.S. Is semen analysis necessary for varicocele patients in their early 20s? / C.S. Kwon, J.H. Lee // *World J Mens Health*. – 2014. - Vol. 32, № 1. - P. 50-55. doi: 10.5534/wjmh.2014.32.1.50.

234. Leber, A.L. *Clinical microbiology procedures handbook* / editor in chief A.L. Leber; Department of Laboratory Medicine, Nationwide Children's Hospital, Columbus, Ohio. Description: 4th edition. / Washington, DC: ASM Press, 2016.

235. Level of DNA fragmentation in human sperm cells in varicocele and prostatitis / L.V. Osadchuk, A.A. Erkovich, E.V. Markova, et al. // *Urologiia*. – 2014. - № 3. - P. 37-43.

236. Lifestyle and fertility in the influence of stress and quality of life on male infertility / A. Nacqua, G Izzo, G.P. Emereziani, et al. // *Reprod Biol Endocrinol*. – 2018. - Vol. 16, № 1. – P. 115. doi: 10.1186/s12958-018-0436-9.

237. Liu, J. Varicocele-caused progressive damage in bilateral testis and sertoli cell-only syndrome in homolateral testis in rats / J. Liu, D. Ding // *Med Sci Monit*. – 2014. - Vol. 14, № 20. - P. 1931-1936. doi: 10.12659/MSM.891324.

238. Liu, M.J. Impact of varicocele on semen quality and inhibin B concentration in serum and seminal plasma / M.J. Liu, E.H. Wang // *Zhonghua Nan Ke Xue.* – 2014. - Vol. 20, № 1. - P.44-47.

239. Low amounts and high thiol oxidation of peroxiredoxins in spermatozoa from infertile men / S. Gong, M.C. San Gabriel, A. Zini, et al. // *J Androl.* – 2012. - Vol. 33, № 6. - P. 1342-1351.

240. Low body mass index might be a predisposing factor for varicocele recurrence: a prospective study / S Gorur, Y. Candan, A. Helli, et al. // *Andrologia.* – 2015. – Vol. 47, № 4. – P. 448-54. doi: 10.1111/and.12287.

241. Ma, H.G. Semen quality and sperm ultrastructure in infertile men with varicocele / H.G. Ma, W.J. Zhao, H.K. Lu // *Zhonghua Nan Ke Xue.* – 2013. - Vol. 19, № 8. - P.704-709.

242. Ma, Z.S. Semen Microbiome Biogeography: An Analysis Based on a Chinese Population Study / Z.S. Ma, L. Li // *Front Microbiol.* – 2018. – № 9. - P. 3333. Published online. doi: 10.3389/fmicb.2018.03333.

243. Madhushankha, M. Clinical characteristics, etiology, management and outcome of hematospermia: a systematic review / M. Madhushankha, U. Jayarajah, A.M. Abeygunasekera // *Am J Clin Exp Urol.* – 2021. - Vol.9, №1. – P.1–17.

244. Magnetic activated cell sorting: an effective method for reduction of sperm DNA fragmentation in varicocele men prior to assisted reproductive techniques / T. Degheidy, H. Abdelfattah, A. Seif, et al. // *Andrologia.* – 2015. - Vol. 47, № 8. - P. 892-896. doi: 10.1111/and.12343.

245. Mahdavi-Zafarghandi, R. Platelet volume indices in patients with varicocele / R. Mahdavi-Zafarghandi, B. Shakiba, M. Tavakkoli // *Clin Exp Reprod Med.* – 2014. - Vol. 41, № 2. - P. 92-95. doi: 10.5653/cerm.2014.41.2.92.

246. Male infertility problems of patients with strict sperm morphology between 5-14% may be missed with the current WHO guidelines / C.F. Jensen, O. Khan, Z.G. Nagras, et al. // *Scand J Urol.* - 2018. - Vol. 52, № 5-6. - P. 427-431. doi: 10.1080/21681805.2018.1548503.

247. Male infertility: the intracellular bacterial hypothesis / M. Stojanov, D. Baud, G. Greub, et al. // *New Microbes New Infect.* – 2018. - № 26. - P. 37–41. doi: 10.1016/j.nmni.2018.08.012.

248. Male Partners of Infertile Couples with Seminal Positivity for Markers of Bacterial Vaginosis Have Impaired Fertility / E. Damke, F.A. Kurscheidt, M.M.T Irie, et al. // *Am J Mens Health.* – 2018. – Vol. 12, № 6. - P. 2104–2115. doi: 10.1177/1557988318794522.

249. Management and Treatment of Varicocele in Children and Adolescents: An Endocrinologic Perspective / R. Cannarella, A.E. Calogero, R.A. Condorelli, et al. // *J Clin Med.* – 2019. - Vol. 8, № 9. – P. 1410. doi: 10.3390/jcm8091410.

250. Manual of clinical microbiology-8th ed. / P.R. Murray, E.J. Baron, J.J. Jorgensen, et al. // ASM Press. 2003.

251. Martins, A.D. Oxidation Reduction Potential: A New Biomarker of Male Infertility / A.D. Martins, A. Agarwal // *Panminerva Med.* – 2019. - Vol. 61, № 2. – P. 108-117. doi: 10.23736/S0031-0808.18.03529-2.

252. McLachlan, R.I. Basis, diagnosis and treatment of immunological infertility in men / R.I. McLachlan // *J Reprod Immunol.* – 2002. - Vol. 57, № 1-2. – P. 35-45. doi: 10.1016/s0165-0378(02)00014-1.

253. Medical optimisation of sperm retrieval in non obstructive azoospermia / H. Lejeune, M. Lapoirie, A. Brosse, et al. // *Gynecol Obstet Fertil.* – 2014. - Vol. 42, № 9. - P.640-643. doi: 10.1016/j.gyobfe.2014.07.023.

254. Microbiota of the seminal fluid from healthy and infertile men / D. Hou, X. Zhou, X. Zhong, et al. // *Fertil Steril.* – 2013. - Vol. 100, № 5. - P. 1261–1269. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.1991.

255. Moazzam, A. Relationship of spermatozoal DNA fragmentation with semen quality in varicocele-positive men / A. Moazzam, R. Sharma, A. Agarwal // *Andrologia.* – 2015. - Vol. 47, № 8. - P. 935-44. doi: 10.1111/and.12360.

256. Morphological changes in varicocele veins: ultrastructural study/ A.O. Musalam, R.A. Eid, M. Al-Assiri, et al. // *Ultrastruct Pathol.* – 2010. - Vol. 34, № 5. - P. 260-268. doi: 10.3109/01913121003793067.

257. Multiple determinations of sperm DNA fragmentation show that varicocelectomy is not indicated for infertile patients with subclinical varicocele / A. García-Peiró, J. Ribas-Maynou, M. Oliver-Bonet, et al. // *Biomed Res Int.* – 2014. - doi: 10.1155/2014/181396.

258. Naito, H. Mechanisms of new blood-vessel formation and proliferative heterogeneity of endothelial cells / H. Naito, T. Iba, N. Takakura // *Int Immunol.* – 2020. - Vol. 32, № 5. – P. 295-305. doi: 10.1093/intimm/dxaa008.

259. Naughton, C.R. Pathophysiology of varicoceles in male infertility / C.R. Naughton, A.K. Nangia, A. Agarwal // *Hum Reprod Update.* – 2001. – Vol. 7, № 5. – P. 473-481. doi: 10.1093/humupd/7.5.473.

260. Norooznezhad, A.H. Endothelial cell dysfunction, coagulation, and angiogenesis in coronavirus disease 2019 (COVID-19) / A.H. Norooznezhad, K. Mansouri // *Microvasc Res.* – 2021. - 137: 104188. doi: 10.1016/j.mvr.2021.104188.

261. Ogaki, A. Vascular Abnormalities and the Role of Vascular Endothelial Growth Factor in the Epileptic Brain / A. Ogaki, Y. Ikegaya, R. Koyama // *Front Pharmacol.* - 2020. - № 4. – P. 11-20. doi: 10.3389/fphar.2020.00020.

262. Oliva, A. Chronic Epididymitis and Grade III Varicocele and Their Associations with Semen Characteristics in Men Consulting for Couple Infertility / A. Oliva, L. Multigner // *Asian J Androl.* – 2018. - Vol. 20, № 4. - P. 360-365. doi: 10.4103/aja.aja_78_17.

263. Omu, A.E. Sperm parameters: paradigmatic index of good health and longevity / A.E. Omu // *Med Princ Pract.* – 2013. - Vol. 22, № 1. - P. 30-42. doi: 10.1159/000354208.

264. Oxidative stress biomarkers and hormonal profile in human patients undergoing varicocelectomy / G.E. Hurtado de Catalfo, A. Ranieri-Casilla, F.A. Marra, et al. // *Int J Androl.* – 2007. - Vol. 30, № 6. - P. 519-530.

265. Parida, R. Human MOSPD2: A bacterial Lmb mimicked auto-antigen is involved in immune infertility / R. Parida // *J Transl Autoimmun.* – 2019. - 1: 100002. doi: 10.1016/j.jtauto.2019.100002.

266. Pastuszak, A.W. Varicocele and testicular function / A.W. Pastuszak, R. Wang // *Asian J Androl.* - 2015. - Vol. 17, № 4. - P. 659-67. doi: 10.4103/1008-682X.153539.
267. Patel, A.S. Prediction of male infertility by the World Health Organization laboratory manual for assessment of semen analysis: A systematic review / A.S. Patel, J.Y. Leong, R. Ramasamy // *Arab J Urol.* - 2017. - Vol. 16, № 1. - P. 96-102. doi: 10.1016/j.aju.2017.10.005.
268. Pathophysiology, diagnosis and treatment of varicoceles: a review / P. Vanlangenhove, E. Dhondt, K. Everaert, et al. // *Minerva Urol Nefrol.* – 2014. - Vol. 66, № 4. - P. 257-282.
269. Peak retrograde flow a potential objective management tool to identify young adults with varicocele 'at risk' for a high sperm DNA fragmentation / G. De Win, D. De Neubourg, S. De Wachter, et al. // *Pediatr Urol.* – 2021. - Vol. 17, № 6. - P. 760. e1-760. e9. doi: 10.1016/j.jpuro.2021.09.018.
270. Percentage change of FSH value: new variable to predict the seminal outcome after varicocelectomy / U. Cantoro, F. Catanzariti, V. Lacetera, et al. // *Andrologia.* – 2015. - Vol. 47, № 4. - P.412-416. doi: 10.1111/and.12280.
271. Physical activity as a possible aggravating factor for athletes with varicocele: impact on the semen profile / L. Di Luig, V. Gentile, F. Pigozzi, et al. // *Hum Reprod.* – 2001. - Vol. 16, № 6. - P. 1180-1184.
272. Practice Committee of American Society for reproductive medicine. Obesity and reproduction: a committee opinion // *Fertil Steril.* – 2021. - Vol. 116, № 5. - P. 1266-1285. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.08.018.
273. Predictive value of oxidative stress testing in semen for sperm DNA fragmentation assessed by sperm chromatin dispersion test / H. Elbardisi, R. Finelli, A. Agarwal, et al. // *Andrology.* – 2020. - Vol. 8, № 3. P. 610-617. doi: 10.1111/andr.12743.
274. Prevalence of Varicocele among Primary and Secondary Infertile Men: Association with Occupation, Smoking and Drinking Alcohol / H. Shafi, S. Esmaeilzadeh, M.A. Delavar, et al. // *N Am J Med Sci.* – 2014. - Vol. 6, № 10. - P. 532-535. doi: 10.4103/1947-2714.143285.

275. Proteomic identification of sperm antigens using serum samples from individuals with and without antisperm antibodies / K. Nowicka-Bauer, M. Kamieniczna, J. Cibulka, et al. // *Andrologia*. – 2016. - Vol. 48, № 6. - P.693-701. doi: 10.1111/and.12502.

276. Reduced Sperm Telomere Length in Individuals with Varicocele Is Associated with Reduced Genomic Integrity / S. Tahamtan, M. Tavalaei, T. Izadi, et al. // *Sci Rep*. – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 4336. doi: 10.1038/s41598-019-40707-2.

277. Relation between male obesity and male infertility in a Tunisian population / L. Hadjkacem, H. Hadjkacem, A. Bahloul, et al. // *Andrologia*. - 2015. - Vol. 47, № 3. - P. 282-285. doi: 10.1111/and.12257.

278. Relationship between testicular sperm extraction and varicocelectomy in patients with varicocele and nonobstructive azoospermia / N. Zampieri, L. Bosaro, C. Costantini, et al. // *Urology*. – 2013. - Vol. 82, № 1. - P. 74-77. doi: 10.1016/j.urology.2013.03.037.

279. Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: a meta-analysis / Y.J. Wang, R.Q. Zhang, Y.J. Lin, et al. // *Reprod Biomed Online*. – 2012. - Vol. 25, № 3. - P. 307-314. doi: 10.1016/j.rbmo.2012.05.002.

280. Relationships between Ghrelin and Obestatin with MDA, Proinflammatory Cytokines, GSH/GSSG Ratio, Catalase Activity, and Semen Parameters in Infertile Patients with Leukocytospermia and Varicocele / L. Micheli, G. Collodel, D. Cerretani, et al. // *Oxid Med Cell Longev*. – 2019: 7261842. doi: 10.1155/2019/7261842.

281. Relationships Between Sperm DNA Integrity and Bulk Semen Parameters in Bulgarian Patients with Varicocele / V. Alargkof, L. Kersten, R. Stanislavov, et al. // *Arch Ital Urol Androl*. – 2019. - Vol. 91, № 2. – P. 125. doi: 10.4081/aiua.2019.2.125. PMID: 31266282.

282. Resistin, interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and human semen parameters in the presence of leukocytospermia, smoking habit, and varicocele / E. Moretti, G. Collodel, L. Mazzi, et al. // *Fertil Steril*. – 2014. - Vol. 102, № 2. - P. 354-60. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.04.017.

283. Restrepo, B. Antisperm antibodies and fertility association / B. Restrepo, W. Cardona-Maya // *Actas Urol Esp.* – 2013. - Vol. 37, № 9. - P. 571-578. doi: 10.1016/j.acuro.2012.11.003.
284. Resveratrol decreases apoptosis and NLRP3 complex expressions in experimental varicocele rat model / E. Hajipour, F.J. Mashayekhi, G. Mosayebi, et al. // *Iran J Basic Med Sci.* – 2018. – Vol. 21, № 2. – P. 225-229. doi: 10.22038/IJBMS.2018.21943.5625.
285. Risk factors on testicular function in adolescents / F. Cargnelutti, A. Di Nisio, F. Pallotti, et al. // *Endocrinol Invest.* – 2022. - Vol. 45, № 9. – P. 1625-1639. doi: 10.1007/s40618-022-01769-8.
286. Role of Antisperm Antibodies in Infertility, Pregnancy, and Potential for Contraceptive and Antifertility Vaccine Designs: Research Progress and Pioneering Vision / A. S. Vickram, K. Dhama, S. Chakraborty, et al. // *Vaccines (Basel).* – 2019. - Vol. 17, № 3. – P. 116. doi: 10.3390/vaccines7030116.
287. Role of Oxidative Stress, Infection and Inflammation in Male Infertility / A. Agarwal, M. Rana, E Qiu, et al. // *Andrologia.* – 2018. – Vol. 50, № 11. e13126. doi: 10.1111/and.13126.
288. Romeo, C. Free radicals in adolescent varicocele testis / C. Romeo, G. Santoro // *Oxid Med Cell Longev.* – 2014: 912878. doi: 10.1155/2014/912878.
289. Ropporin Gene Expression in Infertile Asthenozoospermic Men with Varicocele Before and After Repair / M.K. Amer, R.M. Mostafa, A. Fathy, et al. // *Urology.* – 2015. - Vol. 85, № 4. – P. 805-808. doi: 10.1016/j.urology.2014.12.033.
290. Roque, M. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review / M. Roque, S.C Esteves // *Int Urol Nephrol.* - 2018. - Vol. 50, № 4. - P. 583-603. doi: 10.1007/s11255-018-1839-4.
291. Salas-Huetos, A. Dietary patterns, foods and nutrients in male fertility parameters and fecundability: a systematic review of observational studies / A. Salas-Huetos, M. Bullo, J. Salas-Salvado // *Hum Reprod Update.* – 2017. - Vol. 23, № 4. - P. 371-379. doi: 10.1093/humupud/dmx006.

292. Schoenmakers, S. The matter of the reproductive microbiome / S. Schoenmakers, R. Steegers-Theunissen, M. Faas // *Obstet Med.* – 2019. – Vol. 12, № 3. - P. 107–115. doi: 10.1177/1753495X18775899.

293. Secondary infertility and the aging male, overview / A.A. Katib, K. Al-Hawsawi, W. Motair, et al. // *Cent European J Urol.* – 2014. - Vol. 67, № 2. - P. 184-188. doi: 10.5173/ceju.2014.02. art13.

294. Semen characteristics and malondialdehyde levels in men with different reproductive problems / G. Collodel, E. Moretti, L. Micheli, et al. // *Andrology.* – 2015. - Vol. 3, № 2. – P. 280-6. doi: 10.1111/andr.297.

295. Semen infections in men with primary infertility in the real-life setting / L. Boeri, F. Pederzoli, P. Capogrosso, et al. // *Fertil Steril.* - 2020. - Vol. 113, № 6. – P. 1174-1182.

296. Semen parameters and chromatin packaging in microsurgical varicocele patients / M. Tavalaei, H. Abbasi, M.R. Deemeh, et al. // *Int J Fertil Steril.* – 2012. - Vol. 6, № 3. - P.165-174.

297. Semen profile, testicular volume, and hormonal levels in infertile patients with varicoceles compared with fertile men with and without varicoceles / F.F. Pasqualotto, A.M. Lucon, P.M. de Góes, et al. // *Fertil Steril.* – 2005. - Vol. 83, № 1. - P. 74-77. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.06.047.

298. Semen quality and hormonal levels in infertile patients with varicocele / C. Cantatore, P. Capuano, I. Cobuzzi, et al. // *Arch Ital Urol Androl.* – 2010. - Vol. 82, № 4. - P. 291-293.

299. Semen quality is affected by HLA class I alleles together with sexually transmitted diseases / P. I. Marques, J. C. Gonçalves, C. Monteiro, et al. // *Andrology.* – 2019. - Vol. 7, № 6. - P. 867–877. doi: 10.1111/andr.12625.

300. Seminal androgens, oestradiol and progesterone in oligoasthenoteratozoospermic men with varicocele / A. Zalata, M. El-Mogy, A. Abdel-Khabir, et al. // *Andrologia.* – 2014. - Vol. 46, № 7. - P. 761-765. doi: 10.1111/and.12145.

301. Seminal Oxidation-Reduction Potential and Sperm DNA Fragmentation Index Increase Among Infertile Men with Varicocele / T. Tanaka, Y. Kobori, K. Terai, et al. //

Hum Fertil (Camb). - 2022. - Vol. 25, № 1. - P. 142-146. doi: 10.1080/14647273.2020.1712747.

302. Seminal plasma leptin and spermatozoon apoptosis in patients with varicocele and leucocytospermia / H. Wang, K. Hu, T. Feng, et al. // *Andrologia*. – 2015. - Vol. 47, № 6. - P. 655-61. doi: 10.1111/and.12313.

303. Seminal plasma oxytocin and oxidative stress levels in infertile men with varicocele / T. Mostafa, L.A. Rashed, I. Osman, et al. // *Andrologia*. – 2015. - Vol. 47, № 2. - P. 209-213. doi: 10.1111/and.12248.

304. Shiraishi, K. Effects of Medical Comorbidity on Male Infertility and Comorbidity Treatment on Spermatogenesis / K. Shiraishi, H. Matsumaya // *Fertil Steril*. - 2018. - Vol. 110, № 6. – P. 1006-1011. e2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.07.002.

305. Shiraishi, K. Pathophysiology of varicocele in male infertility in the era of assisted reproductive technology / K. Shiraishi, H. Matsuyama, H. Takihara // *Int J Urol*. - 2012. – Vol. 19, № 6. – P. 538-550. doi: 10.1111/j.1442-2042.2012.02982.x.

306. Significance of determination of intra-acrosomal proteins and sperm antibodies in human reproduction / J. Pavlásek, J. Peknicová, Z. Ulcová-Gallová, et al. // *Ceska Gynekol*. – 2004. - Vol. 69, № 4. – P. 306-311.

307. Significant worsening sperm parameters are associated to testicular hypotrophy in patients with a high grade varicocele / O. Guzel, Y. Aslan, M. Balci, et al. // *Actas Urol Esp*. – 2015. - Vol. 39, № 6. – P. 392-395. doi: 10.1016/j.acuro.2014.08.005.

308. Simon, R.M. Sperm DNA fragmentation: consequence for reproduction / R.M. Simon, B. Emery, D.T. Carrell // *Adv Exp MCD Biol*. – 2019. 1166: 87-105. doi: 10.1007/978-3-030-21664-1_6.

309. Solomon, M. Semen culture and the assessment of genitourinary tract infections / M. Solomon, R. Henkel // *Indian J Urol*. – 2017. - Vol. 33, № 3. – P. 188–193. doi: 10.4103/iju.IJU_407_16.

310. Specialized sperm function tests in varicocele and the future of andrology laboratory / A. Majzoub, S.C. Esteves, J. Gosálvez, et al. // *Asian J Androl*. – 2016. - Vol. 18, № 2. – P. 205-12. doi: 10.4103/1008-682X.172642.

311. Sperm DNA fragmentation index and cumulative live birth in a cohort of 2,713 couples undergoing assisted reproduction treatment / V.S. Malic, A. Stenqvist, M. Bungum, et al. // *Fertil Steril.* – 2021. - Vol. 116, № 6. - P. 1483-1490. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.06.049.

312. Sperm Microbiota and Its Impact on Semen Parameters / D. Baud, C. Pattaroni, N. Vulliemoz, et al. // *Front Microbiol.* – 2019. – № 10. - P. 234. doi:10.3389/fmicb.2019.00234.

313. Sperm protamine mRNA ratio and DNA fragmentation index represent reliable clinical biomarkers for men with varicocele after microsurgical varicocele ligation / K. Ni, K. Steger, H. Yang, et al. // *J Urol.* – 2014. - Vol. 192, № 1. - P. 170-176. doi: 10.1016/j.juro.2014.02.046.

314. Sperm ubiquitination and DNA fragmentation in men with occupational exposure and varicocele / E. Hosseinpour, A. Shahverdi, K. Parivar, et al. // *Andrologia.* – 2014. - Vol. 46, № 4. - P. 423-429.

315. Ssrini, V.S. Does varicolectomy improve gonadal function in men with hypogonadism and infertility? Analysis of a prospective study / V. S. Ssrini, S. Belur Veerachari // *Int J Endocrinol.* – 2011: 916380. doi: 10.1155/2011/916380.

316. Study of the Changes of Acrosomal Enzyme, Nitric Oxide Synthase, and Superoxide Dismutase of Infertile Patients with Positive Antisperm Antibody in Seminal Plasma / Y. Zhao, E. Zhao, C. Zhang, et al. // *Cell Biochem Biophys.* – 2015. - Vol. 3, № 73. - P.639-42. doi: 10.1007/s12013-015-0641-5.

317. Subsequent impaired fertility (with or without sperm worsening) in men who had fathered children after a left varicolectomy: A novel population? / G. Cavallini, G. Beretta, G. Biagiotti, et al. // *Urol Ann.* – 2015. - Vol. 7, № 1. - P. 79-85.

318. Success rates of in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in men with serum anti-sperm antibodies: a consecutive cohort study / S.M. Lu, X. Li, S.L. Wang, et al. // *Asian J Androl.* – 2019. - Vol. 21, № 5. - P. 473-477. doi: 10.4103/aja.aja_124_18.

319. T Lymphocytes and testicular immunity: a new insight into immune regulation in testes / J. Gong, Q. Zeng, D. Yu, et al. // *Int J Mol Sci.* – 2020. - Vol. 22, № 1. - P.57. doi: 10.3390/ijms22010057.
320. Tanrikut, C. The impact of varicocele and varicocele repair on serum testosterone / C. Tanrikut, J.W. McQuaid, M. Goldstein // *Curr Opin Obstet Gynecol.* – 2011. - Vol. 23, № 4. - P. 227-231. doi: 10.1097/GCO.0b013e328348a3e2.
321. Tatem, A.J. The role of microsurgical varicocelectomy in treating male infertility / A.J. Tatem, R.E. Brannigan // *Transl Androl Urol.* – 2017. - Vol. 6, № 4. – P. 722-729. doi: 10.21037/tau.2017.07.16.
322. Tawadrous, G.A. Seminal soluble fas relationship with oxidative stress in infertile men with varicocele / G.A. Tawadrous, A.A. Aziz, T. Mostafa // *Urology.* – 2013. - Vol. 82, № 4. - P.820-823. doi: 10.1016/j.urology.2013.06.018.
323. Tchiokadze, Sh. Clinical and anamnestic characteristics of development of antispermimmunity in infertile men / Sh. Tchiokadze, G. Galdava // *Georgian Med News.* – 2015. - № 246. – P. 18-22.
324. Testicular and vascular changes in children and adults with varicocele / F. Hadziselimovic, B. Herzog, B. Liebundgut, et al. // *J Urol.* – 1989. - Vol. 142, № 2. - P.583-585.
325. Testicular biohistochemical alterations following experimental varicocele in rats / M. Razi, R.A. Sadrkhanloo, H. Malekinejad, et al. // *Iran J Reprod Med.* – 2012. - Vol. 31, № 3. - P. 209-218.
326. Testicular Biopsy Histopathology as an Indicator of Successful Restoration of Spermatogenesis after Varicocelectomy in Non-obstructive Azoospermia / H.A. Aboutaleb, E.A. Elsherif, M.K. Omar, et al. // *World J Mens Health.* – 2014. - Vol. 32, № 1. - P. 43-49.
327. Testicular hypofunction caused by activating p53 expression induced by reactive oxygen species in varicocele rats / M. Liang, J. Wen, Q. Dong, et al. // *Andrologia.* – 2015. - Vol. 47, № 10. - P. 1175-82. doi: 10.1111/and.12400.

328. Thaper, D. Molecular mimicry: An explanation for autoimmune diseases and infertility / D. Thaper, V. Prabha // *Scand J Immunol.* – 2018. - e12697. doi: 10.1111/sji.12697.

329. The complex microbiome from native semen to embryo culture environment in human in vitro fertilization procedure / J. Štšepetova, J. Baranova, J. Simm, et al. // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2020. - Vol. 8, № 1. - P. 3. doi: 10.1186/s12958-019-0562-z.

330. The effect of varicocele treatment on fertility in adults: a systematic review and meta-analysis of published prospective trials / G. Fallara, P. Capogrosso, E. Pozzi, et al. // *Eur Urol Focus.* – 2023. - Vol. 9, № 1.- P. 154-161. doi: 10.1016/j.2022.08.014.

331. The effect of metabolic syndrome upon the success of varicocelectomy / U. Ozturk, N.C. Sener, I Nalbant, et al. // *Scientific World Journal.* - 2012: 985201. doi: 10.1100/2012/985201.

332. The Impact of Bacteriospermia on Semen Parameters: A Meta-Analysis / V. Pergialiotis, N. Karampetsou, D. N. Perrea, et al. // *J Family Reprod Health.* – 2018. - Vol. 12, № 2. - P. 73–83.

333. The impact of unilateral experimental rat varicocele model on testicular histopathology, Leydig cell counts, and intratesticular testosterone levels of both testes / M.I. Ozturk, O. Koca, M.O. Keles, et al. // *Urol J.* – 2013. - Vol. 10, № 3. - P. 973-980.

334. The importance of the presence of antisperm antibodies in serum and ejaculate of men with infertility / A. Emin, E. Konova, D. Lichev, et al. // *Akush Ginekol (Sofia).* – 2008. - Vol. 47, № 2. - P. 26-30.

335. The influence of antisperm antibodies, intratesticular haemodynamics and the surgical approach to varicocelectomy on seminal variables / A.M. Al-Adi, T. El-Karamany, H. Issa, et al. // *Arab J Urol.* – 2014. - Vol. 4, № 12. - P. 309-317. doi: 10.1016/j.aju.2014.07.001.

336. The Negative Impact of Varicocele on Basic Semen Parameters, Sperm Nuclear DNA Dispersion and Oxidation-Reduction Potential in Semen / K. Gill, M. Kups, P. Harasny, et al. // *Int J Environ Res Public Health.* – 2021. - Vol.18, № 11. - P. 5977. doi: 10.3390/ijerph18115977.

337. The Relationship between Seminal Fluid Hyperviscosity and Oxidative Stress: A Systematic Review / F. Barbagallo, S. La Vignera, R. Cannarella, et al. // *Antioxidants (Basel)*. – 2021. - Vol. 10, № 3. - P. 356. doi:10.3390/antiox10030356.

338. The Relationship Among Sperm Global DNA Methylation, Telomere Length, and DNA Fragmentation in Varicocele: A Cross-Sectional Study of 20 Cases / V.P. Santana, C.L. Miranda-Furtado, D.C.C. Pedroso, et al. // *Syst Biol Reprod Med*. - 2019. - Vol. 65, № 2. – P. 95-104. doi: 10.1080/19396368.2018.1557762.

339. The role of hormones on semen parameters in patients with idiopathic or varicocele-related oligoasthenoteratozoospermia (OAT) syndrome / T.C. Wei, W.J. Huang, A.T. Lin, et al. // *J Chin Med Assoc*. – 2013. - Vol. 76, № 11. - P. 624-628. doi: 10.1016/j.jcma.2013.07.005.

340. The role of the antisperm antibodies in male infertility assessment after microsurgical varicocelectomy / V.A. Bozhedomov, N.A. Lipatova, R.A. Alexeev, et al. // *Andrology*. - 2014. - Vol. 2, № 6. - P. 847-855. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00254.x.

341. The role scrotal ultrasonography from infancy to puberty / M. Spaziani, C. Lecis, C. Tarantino, et al. // *Andrology*. – 2021. – Vol. 9, № 5. – P. 1306-1321. doi:10.1111/andr.13056.

342. The significance of clinical practice guidelines on adult varicocele detection and management / A. Shridharani, R.C. Owen, O.O. Elkelany, et al. // *Asian J Androl*. – 2016. - Vol. 18, № 2. – P. 269-75. doi: 10.4103/1008-682X.172641.

343. The semen microbiome and its impact on sperm function and male fertility: a systematic review and meta-analysis / L. Farahani, T. Thakaran, T. Yap, et al. // *Andrology*. – 2021. - Vol. 9, № 1. - P. 115-144. doi: 10.1111/andr.12886.

344. The usefulness of elastography in the evaluation and management of adult men with varicocele: A systematic review / J.O. Bello, K.H. Bhatti, N. Gherabi, et al. // *Arab J Urol*. – 2021. - Vol. 19, № 3. – P. 255–263. doi:10.1080/2090598X.2021.1964256.

345. The Vehicle Determines the Destination: The Significance of Seminal Plasma Factors for Male Fertility / F. Wang, W. Yang, S. Ouyang, et al. // *Int J Mol Sci*. – 2020. – Vol. 21, № 22. - P. 8499. doi: 10.3390/ijms21228499.

346. Time trends for bacterial species and resistance patterns in semen in patients undergoing evaluation for male infertility / G. L. Machen, E. T. Bird, M. L. Brown et al. // *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. – 2018. - Vol.31, №2. - P.165–167. doi: 10.1080/08998280.2018.1444298.

347. Tracking research trends and hotspots in sperm DNA fragmentation testing for the evaluation of male infertility: a scientometric analysis / S. Baskaran, A. Agarwal, M.K.P. Selvam, et al. // *Reprod Biol. Endocrinol.* – 2019. – № 17 (1). – P.110. doi: 10.1186/s12958-019-0550-3.

348. Treatment of varicocele in children and adolescent: a systematic review and meta-analysis from the European Association of Urology / European Society for Paediatric Urology guidelines panel / *Eur Urol Focus*. – 2019. - Vol. 75, № 3. - P. 448-461. doi: 10.1016/j.eururo.2018.09.042.

349. Treprostinil indirectly regulates endothelial colony forming cell angiogenic properties by increasing VEGF-A produced by mesenchymal stem cells / D.M. Smadja, M. Levy, L. Huang, et al. // *Thromb Haemost.* – 2015. – Vol. 114, № 4. – P. 735-47. doi: 10.1160/TH14-11-0907.

350. Ultrastructural sperm flagellum defects in a patient with CCDC39 compound heterozygous mutations and primary ciliary dyskinesia / R. Cannarella, E.T. Maniscalchi, R.A. Condorelli, et al. // *Front Genet.* – 2020. - № 9. - P. 974. doi: 10.3389/fgene.2020.00974.

351. Ultrastructure of the seminiferous tubules in oligoasthenoteratozoospermic men associated with varicocele / A.M. El-Kamshoushi, N.I. Zohdy, N.A. Abou Khedr, et al. // *Andrologia.* – 2013. - Vol. 45, № 5. - P.319-25. doi: 10.1111/and.12011.

352. Unbiased label-free quantitative proteomic profiling and enriched proteomic pathways in seminal plasma of adult men before and after varicocelectomy / M. Camargo, P.I. Lopes, P.T. Del Giudice, et al. // *Hum Reprod.* – 2013. - Vol. 28, № 1. - P.33-46.

353. Urogenital Infection as a Risk Factor for Male Infertility / H. C. Schuppe, A. Pilatz, H. Hossain, et al. // *Dtsch Arztebl Int.* – 2017. - Vol. 114, № 19. - P. 339–346. doi: 10.3238/arztebl.2017.0339.

354. Varicocele among healthy young men in Turkey; prevalence and relationship with body mass index / H. Soylemez, M. Atar, A. Ali Sancaktutar, et al. // *Int Braz J Urol.* – 2012. - Vol. 38, № 1. – P.116-121. doi: 10.1590/S1677-55382012000100016.

355. Varicocele among 1 300 000 Israeli adolescent males: time trends and association with body mass index / A. Rais, S. Zarka, E. Derazne, et al. // *Andrology.* – 2013. - Vol. 1, № 5. - P. 663-669. doi: 10.1111/j.2047-2927.2013.00113.x.

356. Varicocele and antisperm antibody: fact or fiction? / H. Djaladat, A. Mehraei, M. Rezazade, et al. // *South Med J.* – 2006. - Vol. 1, № 99. – P. 44-47.

357. Varicocele and infertility: where do we stand in 2013? / C. Muratorio, M. Meunier, C. Sonigo, et al. // *Gynecol Obstet Fertil.* – 2013. - Vol. 41, № 11. - P. 660-666. doi: 10.1016/j.gyobfe.2013.09.012.

358. Varicocele and Semen Quality: A Retrospective Case-Control Study of 4230 Patients from a Single Centre / F. Pallotti, D. Paoli, T. Carlini, et al. // *J Endocrinol Invest.* - 2018. - Vol. 41, № 2. – P. 185-192. doi: 10.1007/s40618-017-0713-z.

359. Varicocele as a risk factor for androgen deficiency and effect of repair / C. Tanrikut, M. Goldstein, J.S. Rosoff, et al. // *BJU Int.* – 2011. - Vol. 108, № 9. - P. 1480-1484. doi: 10.1111/j.1464-410X.2010.10030.x.

360. Varicocele in adolescence and testicular cancer in young adulthood / G. Verhovsky, M. Giladi, D. Tzur, et al. // *Andrology.* – 2022. - Vol. 10, № 8. – P. 1575-1580. doi: 10.1111/andr.13280.

361. Varicocele-Mediated Male Infertility: From the Perspective of Testicular Immunity and Inflammation / Y. Fang, Y. Su, J. Xu, et al. // *Front Immunol.* – 2021. - 12: 729539. doi: 10.3389/fimmu.2021.729539. eCollection 2021.

362. Varicocele Repair Improves Static Oxidation Reduction Potential as a Measure of Seminal Oxidative Stress Levels in Infertile Men: A Prospective Clinical Trial Using the MiOXSYS System / P.K. Kavoussi, M.S. Gilkey, G.L. Machen, et al. // *Urology.* – 2022. - Vol. 165. – P. 193-197. doi: 10.1016/j.urology.2022.04.007.

363. Varicocele repair for infertility: what is the evidence? / V. Ficarra, A. Crestani, G. Novara, et al. // *Curr Opin Urol.* – 2012. - Vol. 22, № 6. - P. 489-494.

364. Varicocelectomy is associated with increases in serum testosterone independent of clinical grade / W. Hsiao, J.S. Rosoff, J.R. Pale, et al. // *Urology*. – 2013. - Vol. 81, № 6. - P. 1213-1217.

365. Vitamins as primary or adjunctive treatment in infertile men with varicocele: A systematic review / G. Tsampoukas, K. Gkeka, A. Dellis, et al. // *Arab J Urol*. – 2021. - Vol. 19, № 3. - P. 264–273. doi: 10.1080/2090598X.2021.1932124.

366. Walczak-Jedrzejowska, R. The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility / R. Walczak-Jedrzejowska, J.K. Wolski, J. Slowikowska-Hilczer // *Cent European J Urol*. – 2013. - Vol. 66, № 1. - P. 60-7. doi: 10.5173/ceju.2013.01.art19.

367. Wald, M. Male infertility: Causes and cures / M. Wald // *Sexuality, Reproduction & Menopause*. - 2005. - Vol. 3, № 2. – P. 83-87. doi: 10.1016/j.sram.2005.09.006.

368. Westerman, R. Biomarkers for demographic research: sperm counts and other male infertility biomarkers / R. Westerman // *Biodemography Soc Biol*. – 2020. - Vol. 65, № 1. – P. 73-87. doi: 10.1080/19485565.2019.1706150.

369. What human sperm RNA-Seq tells us about the microbiome / G. M. Swanson, S. Moskovtsev, C. Librach, et al. // *J Assist Reprod Genet*. – 2020. - Vol. 37, № 2. - P. 359–368. doi: 10.1007/s10815-019-01672-x.

370. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen: 5th ed. - Geneva, Switzerland: WHO Press. - 2010. - 272 p.

371. Yao, Ph. Varicose Vein Endovenous Laser Therapy / Ph. Yao, T. Mukhdomi // *StatPearls Publishing LLC*. – 2022. [Internet].

372. Yasin, A.L. The Epidemiology of Anti-Sperm Antibodies Among Couples with Unexplained Infertility in North West Bank, Palestine / A.L. Yasin, W.S. Basha // *J Clin Diagn Res*. – 2016. - Vol. 10, № 3. – P. 1-3. doi: 10.7860/JCDR/2016/15788.7380.

373. Youth varicocele and varicocele treatment: a meta-analysis of semen outcomes / J.J. Nork, J.H. Berger, D.S. Crain, et al. // *Fertil Steril*. – 2014. - Vol. 102, № 2. - P. 381-387. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.04.049.

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 муковисцедоза

IL– интерлейкины

TNF – фактор некроза опухоли

VEGF – сосудистый фактор роста

WHO - Всемирная Организация Здравоохранения