

Пичугова
Светлана Владимировна

**РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ, ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ,
ИНФЕКЦИОННЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИИ
АСТЕНОЗООСПЕРМИИ У МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

03.03.01 - физиология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2014

Работа выполнена в лаборатории иммунопатофизиологии ФГБУН Института иммунологии и физиологии УрО РАН.

Научные руководители:

академик РАН и РАМН,
доктор медицинских наук

Черешнев Валерий Александрович

доктор медицинских наук,
профессор

Бейкин Яков Борисович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор кафедры
патологической физиологии
ГБОУ ВПО «Уральский
государственный медицинский
университет» Минздрава России

Осипенко Артур Васильевич

доктор медицинских наук,
профессор кафедры нормальной
физиологии, ГБОУ ВПО «Южно-
Уральский государственный
медицинский университет»
Минздрава России

Сашенков Сергей Львович

Ведущая организация: ГБОУ ВПО Первый государственный Московский
медицинский университет им. Сеченова (г.Москва)

Защита состоится «28» ноября 2014 г. в 13-00 часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 004. 027. 01 при ФГБУН Институте иммунологии и физиологии УрО РАН (620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, д. 106.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН (по адресу 620041, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской – Академическая, д. 22/20), а также на сайте ИИФ УрО РАН, с авторефератом – на сайте ВАК: [http:// vak.ed.gov.ru](http://vak.ed.gov.ru)

Автореферат разослан « ____ » _____ 2014 г.

Ученый секретарь Совета
Д 004.027.01 при ИИФ УрО РАН,
д.м.н., профессор

И.А. Тузанкина

Общая характеристика работы

Актуальность. Бесплодный брак остается одной из важнейших социальных и медицинских проблем, бесплодием страдают около 10-15% супружеских пар (Долгов В.В., Луговская С.А., 2006). Особую значимость приобретает рост удельного веса мужского бесплодия, который может достигать 20-25% (Чалый М., 2009). Репродуктивная система мужского организма уязвима для целого ряда повреждающих факторов. К ним относятся инфекции, аутоиммунные поражения, эндокринные расстройства, курение, алкоголизм, наркомания, радиационное излучение, химические вещества, лекарственные препараты, а также образ жизни отдельного человека и популяции в целом в условиях современного общества. Но в 25% случаев из числа всех обследованных мужчин, причина мужского бесплодия бывает не установлена (Skowronek M., Alciaturi J., et al., 2010). Считается, что для диагностики нарушений репродуктивной функции мужчины достаточно исследования эякулята, включающего в себя оценку концентрации, подвижности и морфологии сперматозоидов. Но диагноз «бесплодие» не может быть выставлен только лишь на основании анализа спермы. Патологические изменения спермы, в большинстве случаев, являются неспецифическими и не дают понимания ни типа бесплодия, ни его причины, а только указывают на наличие определенных отклонений в показателях, что требует дальнейшего обследования пациента (Matalliotakis I., et al., 1996). В ряде случаев фертильность бывает не нарушена и при значительных отклонениях спермограммы от нормы, в то время как бесплодие может наблюдаться и у мужчин с нормозооспермией. К разработке новых технологий, позволяющих с большей вероятностью оценить степень нарушения репродуктивной функции у мужчин, привело отсутствие надежности в предоставлении прогностической информации при использовании анализа эякулята. Востребованными становятся методы исследования, позволяющие обнаружить патологические изменения сперматозоидов (как основной причины нарушения мужской фертильности) на субклеточном уровне, поскольку это дает возможность исследовать органоиды сперматозоидов – «зрелость» хроматина, состояние акросомы и митохондрий, строение центриолей

и жгутика. Но эти технологии до сих пор не получили широкого распространения в клинической практике ввиду сложности метода, отсутствия стандартов его проведения и протокола заключения. Поэтому поиск показателей состояния репродуктивной функции мужчин, которые могли бы дополнить существующие методы, в том числе рекомендованные Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ), является актуальной задачей. Исследование роли различных факторов в развитии астенозооспермии таких как присутствие антиспермальных антител, баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, в сыворотке крови и семенной жидкости, нарушение метаболизма и изменение гормонального статуса, наличие патогенной и условно-патогенной микрофлоры в урогенитальном тракте, варикоцеле, отклонения в кариотипе позволило бы установить механизмы их влияния на ультраструктуру сперматозоидов для лучшего понимания патогенеза астенозооспермии.

Цель работы - определить роль иммунологических, гормональных, метаболических, инфекционных и генетических факторов в развитии астенозооспермии у мужчин с бесплодием.

Задачи исследования:

1. Оценить значимость иммунологических факторов (антиспермальные антитела, баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов) в развитии астенозооспермии.

2. Определить роль патогенной и условно-патогенной микрофлоры в развитии мужского бесплодия.

3. Охарактеризовать особенности гормонального и биохимического статуса пациентов с астенозооспермией.

4. Оценить частоту хромосомных нарушений у мужчин с нарушением подвижности сперматозоидов.

5. Выявить основные ультраструктурные изменения сперматозоидов, обуславливающие нарушение их подвижности.

Научная новизна работы. Впервые дана оценка совокупного влияния различных факторов на развитие астенозооспермии.

Впервые выявлены ультраструктурные изменения сперматозоидов, вызывающие нарушение их подвижности при воздействии инфекционных, иммунологических, гормонально-метаболических и генетических факторов.

Показана роль инфекционного агента в развитии астенозооспермии.

Получены доказательства изменения гормонального статуса и появления метаболических нарушений как ведущих причин нарушения мужской фертильности.

Практическая значимость. Установлено, что для успешной диагностики и лечения мужского бесплодия необходимо исключить наличие инфекционного процесса в урогенитальном тракте, используя не только диагностику традиционных заболеваний передаваемых половым путем (ЗППП), но и выявление условно-патогенной микрофлоры бактериологическим методом исследования эякулята, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР-диагностика), методом электронно-микроскопического исследования сперматозоидов (ЭМИС).

Оценен совокупный вклад факторов, влияющих на мужскую репродуктивную систему, в нарушение фертильности мужчин и в развитие астенозооспермии, что является основой для использования полученных данных в диагностике мужского бесплодия.

Доказана необходимость использования не только спермограммы, но и ЭМИС в диагностике мужского бесплодия, поскольку этот метод позволяет исследовать ультраструктурные изменения сперматозоидов и существенно повышает эффективность диагностики бактериоспермии.

Внедрение результатов исследования в практику. Полученные данные используются в учебном процессе на кафедре акушерства и гинекологии факультета усовершенствования врачей Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования (ГБОУ ВПО) «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. Результаты работы внедрены в практическую деятельность Муниципального автономного учреждения (МАУ) «Клинико-диагностический центр», Муниципального бюджетного учреждения детскую городскую больницу

№ 10 (МБУ ДГБ № 10) - Городской перинатальный центр, Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области областную детскую клиническую больницу №1 (ГБУЗ СО ОДКБ № 1) – Областной перинатальный центр.

Апробация материалов диссертации и публикации. Результаты исследований представлены на XXIII и XXV Российской конференции по электронной микроскопии (г.Черноголовка, 2010, 2014 гг.), конференции «Фундаментальная и практическая андрология» (г.Москва, 2012г.), VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2014» (г.Москва, 2014г.), III Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (г.Екатеринбург, 2014 г.).

По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК РФ - 4 статьи, одна монография.

Положения, выносимые на защиту

1. Основными причинами астенозооспермии являются изменение гормонального и биохимического статуса, наличие условно - патогенной и патогенной микрофлоры в урогенитальном тракте.

2. В присутствии инфекционного агента в урогенитальном тракте уровень провоспалительных цитокинов в эякуляте увеличивается.

3. Результатом действия факторов, оказывающих отрицательное влияние на мужскую репродуктивную систему, является изменение ультраструктуры сперматозоидов.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 175 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы описания материалов и методов, главы результатов исследования причин астенозооспермии, главы анализа механизмов развития астенозооспермии, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка цитируемой литературы, включающего 333 источника, в том числе 54 отечественных и 279 зарубежных. Работа иллюстрирована 21 таблицей и 62 рисунками.

Содержание работы

Материалы и методы исследования. Исследованы эякуляты от 130 пациентов, обследовавшихся по поводу бесплодия. Из них группу сравнения составили 30 пациентов в возрасте от 25 до 42 лет (средний возраст $32,77 \pm 4,36$, $p < 0,8$), у которых по результатам спермограммы была диагностирована нормозооспермия, а по результатам ЭМИС – типичная ультраструктура сперматозоидов.

В основную группу вошли 100 человек в возрасте от 22 до 48 лет (средний возраст $32,41 \pm 5,48$, $p < 0,8$), у которых по результатам спермограммы была выявлена астенозооспермия, в некоторых случаях сочетавшаяся с олигозооспермией, а по результатам ЭМИС - обнаружены ультраструктурные изменения сперматозоидов. Все пациенты в этой группе страдали бесплодием от 1 года до 15 лет.

Критерии включения в исследование: репродуктивный возраст пациентов, отсутствие острых воспалительных процессов в урогенитальном тракте (уретрит, простатит), отсутствие гормональной коррекции бесплодия.

Критерии исключения - наличие тератозооспермии, сифилиса, гонореи, трихомониаза, ВИЧ-инфекции.

При работе с амбулаторными картами внимание уделяляли наличию инфекционных болезней и ЗППП в анамнезе, наличию соматической и профессиональной патологии, аллергоанамнезу. Была собрана информация о курении, употреблении алкоголя и наркотиков, сведения о наличии у пациентов простатита, уретрита, варикоцеле.

Спермограмму выполняли по общепринятой методике, и ее параметры оценивали в соответствии с критериями ВОЗ 2010 года. По результатам спермограммы пациентов относили либо к группе сравнения (нормозооспермия), либо к основной группе (астенозооспермия).

Для ЭМИС эякулят фиксировали в 2,5% растворе глютаральдегида. Затем образец центрифугировали, полученный осадок помещали для последующей дофиксации в 1% раствор 4-х окиси осмия, после чего проводили в спиртах

возрастающей концентрации и полимеризовали в аралдитовой смоле при температуре 60⁰С. Ультратонкие срезы получали на ультратоме Leica EM UC6, контрастировали цитратом свинца и исследовали в электронном микроскопе Morgagni 268. На продольных и поперечных срезах сперматозоидов оценивали форму ядер и состояние хроматина (степень компактизации, наличие вакуолей и очагов деструкции), наличие акросомы, ее локализацию, размер и состояние, структуру центриолей и аксонемы (количественные и качественные характеристики дуплетов, денеиновых ручек), структуру и локализацию митохондрий, плотных фибрилл, волокон фиброзного слоя, наличие цитоплазматической капли и ее локализацию.

Для бактериологического исследования эякулята материал отбирали в стерильный контейнер и осуществляли посев на 5%-крово-дрожжевой агар, шоколадный агар, Сабуро агар. Оценка результатов исследования включала количественный учет (титр) - определение числа колониеобразующих единиц в 1 мл (КОЕ/мл), видовую принадлежность всех значимых морфотипов.

Индикацию и идентификацию *Chlamidia trachomatis*, *Micoplasma hominis*, *Micoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Herpes simplex virus* 1,2 типов и *Cytomegalovirus* осуществляли методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией уровня флуоресцентного сигнала по конечной точке (FEP). Все исследования по генодиагностике возбудителей заболеваний урогенитального тракта выполняли на автоматическом люминесцентном анализаторе «АЛИА-1/4» (BioScan, Латвия) с использованием диагностических наборов фирмы «АмплиСенс» (Москва).

Определение антиспермальных антител в сыворотке крови проводили методом количественного ИФА на диагностических наборах фирмы «Bioserv». В исследовании определяли концентрацию антител в МЕ/мл, положительным считали результат с концентрацией более 60 МЕ/мл. Оценка результатов исследования выполнена на фотометре «Multiscan Plus» фирмы «Labsystems».

Исследование эякулята на наличие антиспермальных антител проводили выполнением MAR-теста с использованием диагностических наборов Bioscreen,

фирмы «Bioserv», позволяющего выявить антитела классов IgG и IgA, прикрепленные к поверхности сперматозоидов. Положительным считали тест, в котором более 50% сперматозоидов несли на себе прикрепленные частицы. Оценка результатов теста проведена на микроскопе «OLYMPUS» в фазовом контрасте, при увеличении 10x40.

Антитела в эякуляте определяли с помощью метода латексной агглютинации на диагностических наборах фирмы «Bioserv». Тест на присутствие антиспермальных антител считали положительным, если агглютинация присутствовала при разведении образца начиная с 1:200 (визуальная оценка теста).

Содержание секретированных цитокинов IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10 в сыворотке периферической крови и эякуляте определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) и оборудования для ИФА фирмы «Thermo Electron».

Гематологические исследования проводили на гематологической системе ADVIA 120 фирмы «Bayer» (Австрия) с использованием диагностических наборов фирмы «Siemens».

Общий анализ мочи выполнен с помощью тест-полосок «Siemens Multistix 10 SG» на анализаторе мочи «Clinitek 500 Bayer». Морфологическое исследование осадка мочи проводили микроскопией нативного препарата осадка мочи на микроскопе «OLYMPUS».

Отделяемое уретры наносили на предметное стекло, высушивали, окрашивали метиленовым синим. Мазки просматривали с иммерсией на микроскопе «OLYMPUS» с целью выявления воспалительного процесса в уретре, а также *Tr. vaginalis* и *N. Gonorrhoeae*.

Секрет предстательной железы исследовали по общепринятой методике на микроскопе «OLYMPUS» для исключения воспалительного процесса в предстательной железе.

Гормональные исследования (тиреотропный гормон (ТТГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ),

пролактин (ПРЛ), прогестерон, эстрадиол, тестостерон) проведены на автоматическом хемилюминесцентном анализаторе «ADVIA Centaur XP» фирмы «Siemens» на диагностических наборах фирмы «Siemens».

Биохимические исследования (общий белок, глюкоза, липиды) проведены на автоматическом биохимическом анализаторе «Vitros 350» (слайдовая технология) фирмы «OrthoClinical Diagnostics» (США) с использованием диагностических наборов этой же фирмы.

В качестве материала для получения и анализа хромосомного материала использовали цельную периферическую кровь. Цитогенетическое исследование проводили по стандартной методике (Кулешов Н.П., 1991).

Анализ хромосомных препаратов проведен на микроскопе «OLYMPUS», под масляной иммерсией и предполагал оценку общего количества хромосом в метафазной пластинке, индивидуальную идентификацию хромосом по морфологическим характеристикам и дифференциальной окраске. Сравнение хромосом на полученных препаратах проводили с вариантами нормального кариотипа, приведенными в атласе «Хромосомы человека» (Захаров А.Ф., 1982). Обозначение кариотипа выполнено в соответствии с Парижской номенклатурой хромосом 1985г. (Кулешов Н.П., 1991).

Для исследования на наличие антител к ВИЧ использовали иммуноферментные коммерческие тест-системы отечественного производства, разрешенные к применению на территории РФ приказами МЗ РФ и МП («ДС-ИФА-АНТИ-ВИЧ-УНИФ», «ДС-ИФА-ВИЧ-АГАТ-СКРИН» производства ООО «НПО «Диагностические системы», г.Нижний Новгород). Иммуноферментный анализ проводили с использованием комплекта оборудования фирмы «BioRad». Для подтверждения положительных результатов в ИФА использовали диагностические наборы «МПБА-БЛОТ-ВИЧ1, ВИЧ2» производства ООО «МПБА-диагностика» и «New Lav Blot-I» производства фирмы «Bio Rad».

Для серологического обследования на сифилис использовали тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест» г.Новосибирск («РекомбиБест антипаллидум-суммарные антитела»; «РекомбиБест антипаллидум-IgG»; «РекомбиБест

антипаллидум-IgM», «РПГА-Бест антипаллидум»), для постановки РМП – набор реагентов «Люис-тест» для определения ассоциированных с сифилисом реактивных антител производства НПО «Диагностические системы».

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета «Анализ данных» программы Excel для Windows XP. Все выборки данных были проверены на однородность и исключены выпадающие данные. Для описания количественных показателей в случае нормально распределенной совокупности использовались выборочная средняя (средняя арифметическая) и стандартное отклонение, ошибка среднего и 95% доверительные интервалы средних значений. При сравнении показателей двух групп использовался критерий Стьюдента с поправкой Йетса. Качественные признаки выражались через проценты с указанием 95% доверительного интервала (95%CI) (Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц - М., Изд-во «Практика», 1999.-С.27-46, 81-108, 132-154, 211-216). Для установления корреляционных взаимосвязей ряда показателей использовался линейный коэффициент корреляции Пирсона (r). Различия результатов считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Анализ качественных признаков проводили с помощью критерия χ^2 .

Результаты исследования. Анализ спермограмм, выполненных за три года в МАУ «Клинико-диагностический центр» свидетельствует о том, что наиболее часто диагностируется нарушение подвижности сперматозоидов – астенозооспермия, которая не только занимает лидирующее положение среди патологических состояний эякулята, но и существенно превышает количество случаев с нормозооспермией (рисунок 1).

По данным спермограмм в группе сравнения качественные, количественные показатели и морфология сперматозоидов были в пределах нормы. Во вторую группу были включены 100 человек, у которых по результатам спермограммы выявлена астенозооспермия. Из них у 21 человека (21%) установлено сочетание астенозооспермии с уменьшением количества сперматозоидов в эякуляте ниже референтного интервала, что квалифицируется как олигозооспермия (таблица 1).

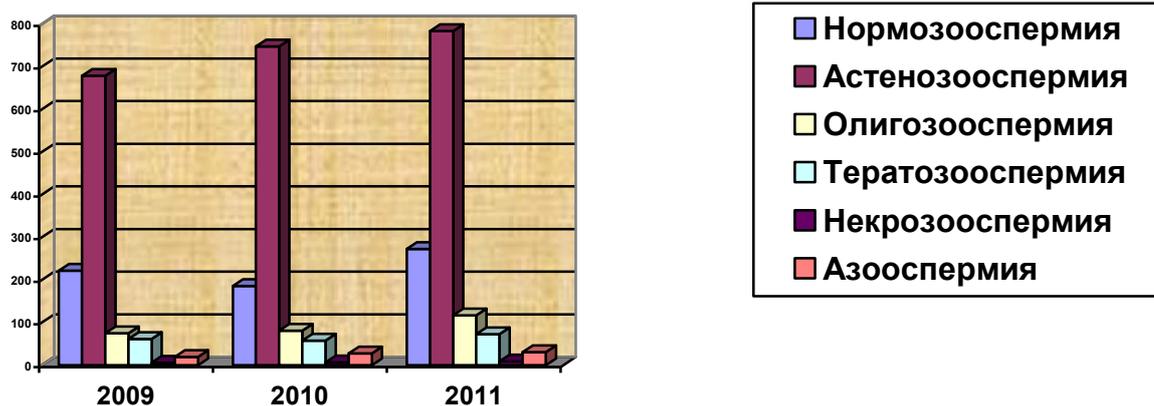


Рисунок 1 - Распределение типов спермограмм, исследованных за период 2009 – 2011 гг.

Таблица 1 – Результаты исследования спермограмм

Показатель спермограммы	Группа сравнения N = 30	Основная группа N = 100
1. Объем эякулята (мл)	в норме	в норме
2. Концентрация сперматозоидов (млн/мл)		
- в пределах нормы	30 (100%)	79 (79%)
- олигозооспермия	0	21 (21%)
3. Общее количество сперматозоидов (млн)		
- в пределах нормы	30 (100%)	100 (100%)
4. Цвет	в норме	в норме
5. pH		
- в норме	30 (100%)	88 (88%)
- кислая	0	2 (2%)(pH 7)
- щелочная	0	10 (10%)(pH 9)
6. Вязкость (см)	в норме	в норме
7. Агглютинация		
- отсутствует	18 (60%)	40 (40%)
- присутствует	12 (40%)	60 (60%)
8. Агрегация		
- отсутствует	24 (80%)	78 (78%)
- присутствует	6 (20%)	22 (22%)
9. Слизь	отсутствует	40 (40%)
10. Лецитиновые зерна	в норме	в норме
11. Амилоидные тельца	не обнаружены	не обнаружены
12. Астенозооспермия	(0%)	100(100%)
13. Некрозооспермия	не выявлена	не выявлена
14. Лейкоциты (млн/мл)	не выявлена	не выявлена
15. Тератозооспермия	не выявлена	не выявлена

В основной группе агглютинация выраженная или резко выраженная, преимущественно смешанного типа. У пациентов основной группы в 40 случаях (40%) в эякуляте выявлена слизь, что позволяет связать ее наличие с астенозооспермией.

Следующим этапом исследования стала попытка определить изменения ультраструктур сперматозоида, в том числе и приводящих к нарушению подвижности (таблица 2).

На ультраструктурном уровне выявлены изменения жгутика, связанные с нарушением подвижности сперматозоидов.

Таблица 2 – Результаты электронно-микроскопического исследования сперматозоидов пациентов

ЭМИС Показатели	Группа сравнения N = 30	Основная группа N = 100	p
АКРОСОМА			
Преобладание типичной структуры акросомы	30 (100%)	46 (46%)	p < 0,0001
Набухание, вакуолизация, фрагментация и деградация акросомы	1 (3%*)	35 (35%)	p < 0,0001
Волнистость акросомы с расширением постакрсомального пространства	1 (3%*)	18 (18%)	p < 0,0029
Гипоплазия акросомы	0 (0%)	2 (2%)	p > 0,05
Дупликация акросомы	0 (0%)	3 (3%)	p > 0,05
Гипоплазия и дупликация акросомы	0 (0%)	1 (1%)	p > 0,05
ЯДРО			
Преобладание сперматозоидов с гомогенным хроматином	30 (100%)	37 (37%)	p < 0,0001
Зрелый вакуолизованный хроматин	0 (*)	40 (40%)	p < 0,0001
Гранулярный неконденсированный хроматин	1 (3%)	12 (12%)	p < 0,0477
Гранулярный вакуолизованный хроматин	0 (*)	10 (10%)	p < 0,0011
Глобулозооспермия	0 (0%)	0 (*)	p > 0,05
ШЕЙКА			
Преобладание типичной ультраструктуры шейки сперматозоидов	30 (100%)	100 (100%)	p > 0,05
Изменения триплетов центриоли	0 (0%)	1 (1%*)	p > 0,05
Присоединение головки и шейки не по оси сперматозоида	1 (3%*)	5 (5%)	p > 0,05
Непрочное соединение головки и шейки сперматозоида	0 (0%*)	2 (2%)	p > 0,05
Нарушение формирования структур шейки	0 (0%)	0 (*)	p > 0,05
АКСОНЕМА			
Отсутствие или избыточность структур аксонемы	0 (0%)	0 (*)	p > 0,05

<i>Продолжение таблицы</i>			
СРЕДНИЙ ОТДЕЛ ЖГУТИКА			
Набухание митохондрий	11 (37%*)	50 (50%)	p < 0,0001
Набухание митохондрий в сочетании с деструкцией крист	1 (3%*)	42 (42%)	p < 0,0001
Выраженная деструкция крист, просветление митохондриального матрикса	1 (3%*)	22 (22%)	p < 0,0004
Пикноз митохондрий	1 (3%*)	8 (8%)	p > 0,05
Нарушение спиральной упаковки митохондрий	0 (0%)	16 (16%)	p < 0,0001
Изменения митохондрий в сочетании с гиперплазией ядерной мембраны	1 (3%*)	14 (14%)	p < 0,0198
Гиперплазия ядерной мембраны	1 (3%*)	12 (12%)	p < 0,04
Нарушения дифференцировки сперматозоидов с множественными структурными пороками	0 (0%)	10 (10%)	p < 0,0011
ОСНОВНОЙ ОТДЕЛ ЖГУТИКА			
Типичная ультраструктура фиброзной оболочки	30 (100%)	100 (100%)	p > 0,05
Неупорядоченное расположение волокон фиброзной оболочки	0 (0%)	0 (*)	p > 0,05
Гиперплазия волокон фиброзной оболочки	0 (0%)	0 (*)	p > 0,05
БАКТЕРИОСПЕРМИЯ			
Бактериоспермия	0 (0%)	34 (34%)	p < 0,0000
Лейкоциты в эякуляте	0 (0%)	68 (68%)	p < 0,0000
Сдвоенные жгутики и головки сперматозоидов	0 (0%)	64 (64%)*	p < 0,0000

Примечание: *единичные сперматозоиды с указанным признаком

Обнаружено набухание митохондрий, но, в ряде случаев, выявлено и их уплотнение, уменьшение в размерах, нарушение двухконтурности мембран, деструкция крист, гомогенизация митохондриального матрикса, в тяжелых случаях – просветление матрикса и опустошение митохондрий, нарушение спиральной упаковки со смещением этих органелл относительно друг друга. Указанные изменения выявлены во всех случаях астенозооспермии, но с разной частотой и степенью выраженности. При наличии гиперплазированной ядерной мембраны нарушения подвижности сперматозоидов проявлялись незначительным увеличением количества клеток с отсутствием поступательного движения (категория «С») или неподвижных (категория «D»). Более тяжелые нарушения подвижности сперматозоидов отмечены в тех наблюдениях, где выявлены патологические изменения митохондрий, либо когда эти изменения сочетались с гиперплазией ядерной мембраны. В таких случаях определялось существенное

количественное преобладание сперматозоидов категорий «С» и «D» над сперматозоидами с быстрой прогрессивной подвижностью (категории «А») и с медленной прогрессивной подвижностью (категория «В»).

Патологические изменения остальных структур, ответственных за подвижность сперматозоидов (центральные и периферические дуплеты, наружные плотные фибриллы, денеиновые ручки, структуры фиброзного слоя), обнаружены в единичных сперматозоидах, количество которых было настолько мало, что их значением в развитии астенозооспермии, по-видимому, можно пренебречь.

Патологические изменения обнаружены не только в жгутиках, но и в головках сперматозоидов, в частности, выявлены изменения структуры хроматина (вакуолизация или гранулярность) и акросомы (набухание и деградация). При действии генетических факторов перечисленные изменения структур сперматозоидов были бы диагностированы у всей их популяции. Но, поскольку изменения ультраструктуры являются достаточно разнородными и обнаружены не во всех клетках, то можно предположить, что они вызваны действием именно внешних факторов. В литературе подобные изменения в сперматозоидах чаще всего описаны при действии оксидантного стресса, обусловленного влиянием различных этиологических факторов. Оксидантный стресс рассматривается как основной механизм повреждения ультраструктур сперматозоидов (Pons-Rejraji H., et al., 2009, Moskovtsev S.I., et al., 2010, Kumar R., et al., 2009).

При электронно-микроскопическом исследовании эякулята в основной группе в 34% случаев диагностирована бактериоспермия. В случаях бактериоспермии достоверно чаще отмечены тяжелые изменения митохондрий, вплоть до их полного опустошения, а также нарушения дифференцировки сперматозоидов, проявляющиеся наличием клеток со сдвоенными головками или жгутиками. Бактерии в эякуляте обнаружены адсорбированными на тяжах слизи и эпителиальных клетках, внутри макрофагов и слепков в просвете канальцев. Вероятно, это способствует формированию биопленок – особого биоценоза, в котором бактерии способны длительно существовать в урогенитальном тракте. В

таких условиях они оказываются защищенными от распознавания иммунокомпетентными клетками. Кроме того, биопленки, возможно, препятствуют росту бактерий на питательных средах и они не могут быть диагностированы бактериологическим методом.

Бактериологический посев эякулята позволил диагностировать наличие инфекционного агента у 17 обследованных (17%) основной группы, установить бактериальный морфотип и титр. Методом ПЦР инфекционный агент диагностирован еще у 27 пациентов (27%). Совместное использование трех методов для выявления бактериоспермии существенно повысило выявляемость инфекционного агента (71 случай) и помогло установить, что спектр микроорганизмов в урогенитальном тракте представлен преимущественно условно-патогенной микрофлорой - *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Ureaplasma parvum* (рисунок 2).

Невысокий титр бактерий (10^2 - 10^4 КОЕ/мл) свидетельствует о бактерионосительстве. Инфекционный агент обнаружен только у пациентов с астенозооспермией на фоне ультраструктурных изменений сперматозоидов. Поэтому, можно полагать, что наличие условно-патогенной микрофлоры в урогенитальном тракте является одним из ведущих факторов в нарушении подвижности сперматозоидов.

Для оценки степени участия антиспермальных антител (АСАТ) в нарушении репродукции проведено определение концентрации АСАТ в сыворотке крови, семенной жидкости и на поверхности сперматозоидов. В семенной жидкости АСАТ не обнаружены, а их уровни на поверхности сперматозоидов и в сыворотке крови не превышали референтного интервала.

Особого внимания заслуживает то, что АСАТ в сыворотке крови обнаружены у всех пациентов обеих групп, но достоверно выше их содержание у пациентов с астенозооспермией (таблица 3).

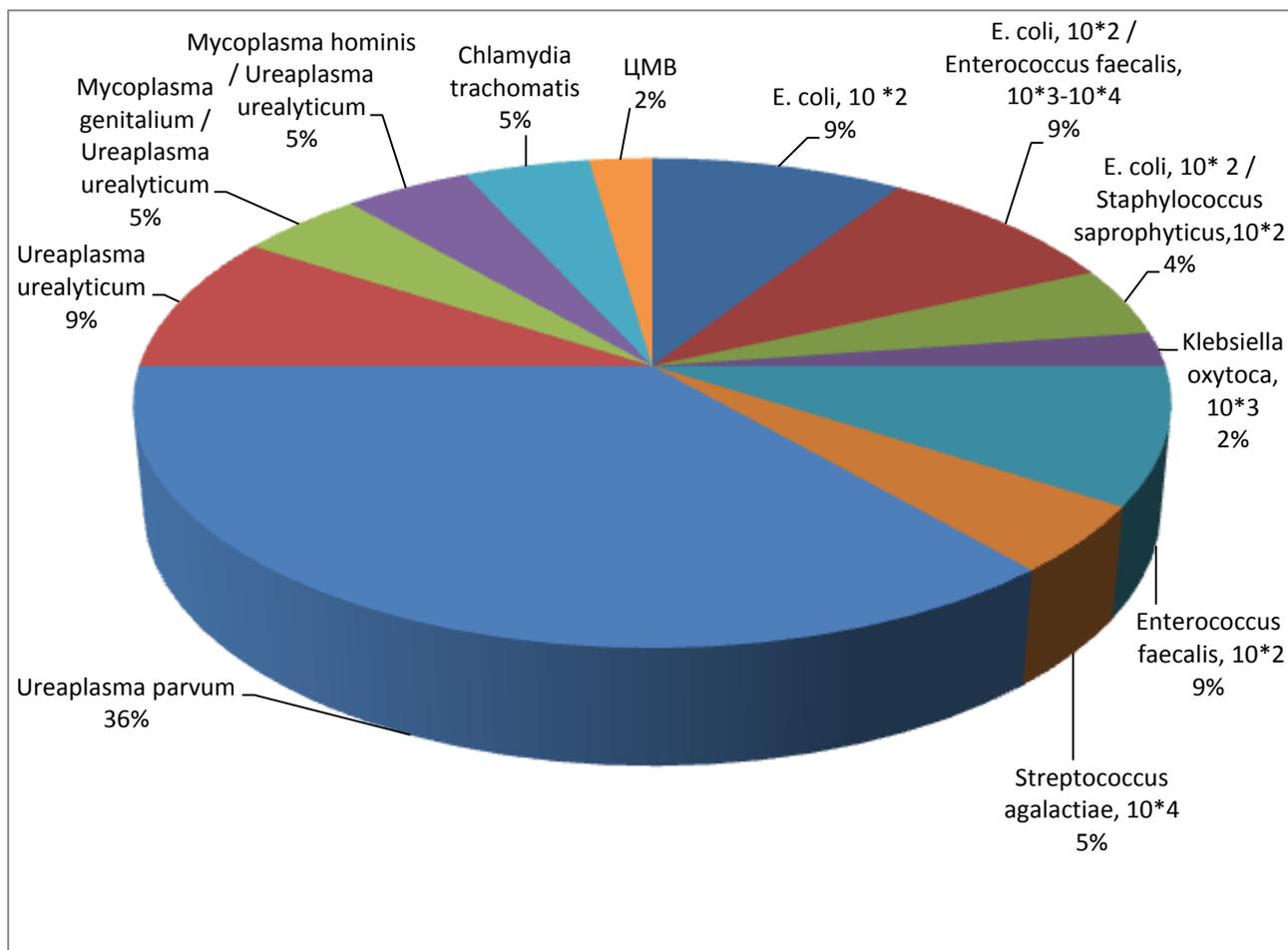


Рисунок 2 - Микробный спектр и количественные характеристики выявленных микроорганизмов.

Таблица 3 – Концентрация АСАТ в сыворотке крови, на поверхности сперматозоидов и в семенной жидкости

Показатели	Группа сравнения n = 30	Основная группа n = 100	p
АСАТ в сыворотке крови (МЕ/мл)	26,34±0,94	29,48±0,89	p < 0,01
АСАТ класса IgA на поверхности сперматозоидов	3,666±1,36	4,33±0,34	p < 0,73
АСАТ класса IgG на поверхности сперматозоидов	5,3±1,82	3,67±0,77	p < 0,41
АСАТ в семенной жидкости (латекс-агглютинация)	0	0	0

Нарушение проницаемости гематотестикулярного барьера при хроническом воспалении, инфекции, травме приводит к развитию аутоиммунных реакций и образованию антиспермальных антител. Наличие АСАТ в эякуляте связано и с присутствием инфекционного агента. Бактерии способны вызывать модификацию

антигенов сперматозоидов приводя к образованию АСАТ. Поэтому была проведена оценка концентрации АСАТ на поверхности сперматозоидов у пациентов при наличии инфекционного агента в урогенитальном тракте и у пациентов без инфекционного агента (таблица 4).

Таблица 4 - Концентрация АСАТ, циркулирующих в сыворотке крови и фиксированных на поверхности сперматозоидов у пациентов группы с выявленным инфекционным агентом в урогенитальном тракте и группы пациентов без инфекционного агента

АСАТ	Группа сравнения n = 30	Группа с инфекционным агентом n = 71	Группа без инфекционного агента n = 29	p
АСАТ в сыворотке крови	26,34±0,95	30,05±0,99	27,51±2,04	P¹<0,005 ; p ² <0,373; p ³ <0,054
Выявление Ig G на поверхности сперматозоидов	5,3±1,83	4,29±0,97	1,45±1,97	P ¹ <0,611; p ² <0,057; p ³ <0,155
Выявление IgA на поверхности сперматозоидов	3,67±1,36	5,23±1,75	1,14±0,52	P ¹ <0,421; p ² <0,197; p³<0,037

Примечание:

p¹ – достоверные различия между группой сравнения и группой с инф. агентом;

p² - достоверные различия между группой сравнения и группой без инфекционного агента;

p³ - достоверные различия между группой с инфекционным агентом и группой без инфекционного агента.

Оценка концентрации АСАТ, циркулирующих в сыворотке крови и фиксированных на поверхности сперматозоидов, показала, что при наличии инфекционного агента в урогенитальном тракте достоверно выше концентрация АСАТ в сыворотке крови и АСАТ класса Ig A, фиксированных на поверхности сперматозоидов. Наиболее изученными механизмами влияния АСАТ на сперматозоиды являются снижение их подвижности вследствие агглютинации, а также прямое цитотоксическое действие локальных антител. Поскольку уровень АСАТ в сыворотке крови и на поверхности сперматозоидов не превышал допустимых значений, а, по результатам исследования, агглютинация выявлена в обеих группах, можно предположить, что присутствие АСАТ и в пределах

референтного интервала приводит к нарушению подвижности и ультраструктуры сперматозоидов.

В последнее время активно исследуется роль цитокинов в развитии мужского бесплодия. Наличие инфекционного агента может привести к повышению уровня провоспалительных цитокинов. Выявлены более высокие уровни провоспалительных цитокинов в семенной жидкости, чем в сыворотке крови, но значимо они не отличались у пациентов обеих групп. Достоверно значимое повышение диагностировано для ИЛ-6 в сыворотке крови при астенозооспермии (таблица 5).

Таблица 5 - Показатели уровней цитокинов в сыворотке крови и в эякуляте группы сравнения и основной группы

Показатели (пг/мл)	Группа сравнения n = 30	Основная группа n = 100	p
Сыворотка крови:			
ИЛ-1 β	1,76 \pm 0,63	2,76 \pm 0,77	p < 0,32
ИЛ-6	0,07 \pm 0,04	0,69 \pm 0,17	p < 0,001
ИЛ-4	1,05 \pm 0,18	1,51 \pm 0,23	p < 0,12
ИЛ-10	7,5 \pm 1,7	5,21 \pm 0,40	p < 0,19
Эякулят:			
ИЛ-1 β	10,67 \pm 1,60	26,7 \pm 13,0	p < 0,22
ИЛ-6	41,13 \pm 9,87	54,6 \pm 25,26	p < 0,62
ИЛ-4	2,08 \pm 0,23	1,64 \pm 0,12	p < 0,09
ИЛ-10	5,71 \pm 0,64	4,88 \pm 0,77	p < 0,44

Углубленное исследование цитокинового профиля у пациентов с астенозооспермией на фоне инфекционного агента в урогенитальном тракте показало, что помимо увеличения ИЛ-6 в сыворотке крови у таких пациентов также отмечается значительное увеличение и концентрации ИЛ-1 β в семенной жидкости (таблица 6).

Следовательно, присутствие инфекционного агента в урогенитальном тракте является фактором увеличения провоспалительных цитокинов на локальном и системном уровнях.

Таблица 6 –Показатели уровней цитокинов в сыворотке крови и эякуляте пациентов группы с выявленным инфекционным агентом в урогенитальном тракте и группы пациентов без инфекционного агента

Показатели (пг/мл)	Группа сравнения n = 30	Группа с инфекционным агентом n = 71	Группа без инфекционного агента n = 29	p
Сыворотка крови				
IL-1 β	1,76 \pm 0,63	3,01 \pm 0,77	1,87 \pm 0,77	p ₁ <0,21; p ₂ <0,91; p ₃ <0,25
IL-6	0,07 \pm 0,04	0,77 \pm 0,17	0,42 \pm 0,17	p₁<0,002 ; p ₂ <0,06; p ₃ <0,06
IL-4	1,05 \pm 0,18	1,41 \pm 0,23	1,89 \pm 0,23	p ₁ <0,23; p ₂ <0,063; p ₃ <0,11
IL-10	7,5 \pm 1,7	5,4 \pm 0,4	4,34 \pm 0,4	p ₁ <0,23; p ₂ <0,07; p ₃ <0,54
Эякулят				
IL-1 β	10,67 \pm 1,6	28,9 \pm 13,0	1,97 \pm 0,6	p ₁ <0,28; p ₂ <0,09; p₃<0,04
IL-6	41,13 \pm 9,8	48,4 \pm 9,8	29,61 \pm 9,8	p ₁ <0,81; p ₂ <0,36; p ₃ <0,49
IL-4	2,08 \pm 0,23	1,73 \pm 0,12	1,55 \pm 0,12	p ₁ <0,17; p ₂ <0,06; p ₃ <0,49
IL-10	5,71 \pm 0,64	5,23 \pm 0,86	4,25 \pm 0,86	p ₁ <0,65; p ₂ <0,17; p ₃ <0,36

Примечание:

p₁ – достоверные различия между группой сравнения и группой с инф. агентом;

p₂ - достоверные различия между группой сравнения и группой без инфекционного агента;

p₃ - достоверные различия между группой с инфекционным агентом и группой без инфекционного агента.

Повышению уровня провоспалительных цитокинов сопутствует активизация лимфоцитов и макрофагов, которые являются продуцентами активных форм кислорода. Этот процесс запускает оксидантный стресс, оказывающий повреждающее действие на структуру сперматозоидов.

Не установлено существенных различий в уровнях противовоспалительных цитокинов ни между сравниваемыми группами, ни у пациентов с наличием инфекционного агента в урогенитальном тракте и без нее.

Увеличение уровня IL-1 β , особенно на фоне снижения уровня тестостерона, может приводить к повышению проницаемости гематотесткулярного барьера и развитию аутоиммунных реакций с образованием АСАТ. Возможно, этот механизм лежит в основе более высокого уровня АСАТ у пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов.

Большая группа факторов, способных привести к нарушению подвижности сперматозоидов - гормонально-метаболические. У пациентов с нарушением

подвижности сперматозоидов выявлен достоверно более высокий уровень глюкозы в сыворотке крови. Кроме того, в обеих группах установлено увеличение атерогенных фракций липидов (холестерин, липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и триглицеридов) и снижении антиатерогенных липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), но достоверных различий между группами не выявлено (таблица 7).

Таблица 7 - Биохимические показатели пациентов группы сравнения и основной группы

Показатели	Группа сравнения n = 30	Основная группа n = 100	p
Общий белок (г/л)	75,32±3,65	76,89±5,0	p < 0,102
Глюкоза (ммоль/л)	4,92±0,52	5,24±0,63	p < 0,005
Холестерин (ммоль/л)	4,86±1,14	4,9±0,9	p < 0,84
ЛПНП (ммоль/л)	2,7±0,91	2,95±0,772	p < 0,13
ЛПВП (ммоль/л)	1,27±0,35	1,2±0,4	p < 0,32
Триглицериды (ммоль/л)	1,54±0,89	1,61±1,01	p < 0,71

Гипергликемия и дислипидемия рассматриваются как компоненты метаболического синдрома. Гипергликемия направлена на поддержание эффективного углеводного обмена в условиях метаболического синдрома. Недостаток глюкозы в клетке, гликозилирование мембран клеток Лейдига, клеток Сертоли, сперматозоидов приводит к их перекисному окислению, снижению антиоксидантной защиты, повреждению ядерной и митохондриальной ДНК сперматозоидов и также нарушению их подвижности. Дислипидемия и гиперхолестеринемия влияют на уровень фосфолипидов и жирных кислот в эякуляте, что приводит к изменению функциональных возможностей мембран сперматозоидов. Вероятно, выявленная в обеих группах дислипидемия приводит к формированию такой ультраструктурной патологии сперматозоидов как гиперплазированная ядерная мембрана. И, если в группе сравнения выявляются единичные сперматозоиды с таким дефектом, то в основной группе количество таких сперматозоидов существенно возрастает и приводит к астенозооспермии.

Кроме того, выраженность андрогенного дефицита находится в достоверной обратной связи с выраженностью нарушений углеводного и жирового обменов.

Висцеральный и периферический жир вырабатывают большое количество гормонов, провоспалительных цитокинов и ферментов, в том числе ароматазу под действием которой происходит превращение тестостерона в эстрогены. О недостатке тестостерона у пациентов основной группы свидетельствует и достоверно значимое увеличение уровней ЛГ и эстрадиола (таблица 8).

Таблица 8 - Гормональные показатели пациентов в группе сравнения и основной группе

Показатели	Группа сравнения n = 30	Основная группа n = 100	p
Тестостерон общий (нмоль/л)	24,48 \pm 9,71	20,7 \pm 9,02	p < 0,06
Тестостерон свободный (пг/мл)	12,5 \pm 3,97	11,36 \pm 6,0	p < 0,23
ФСГ (мМЕ/мл)	4,7 \pm 2,0	5,16 \pm 2,6	p < 0,31
ЛГ (мМЕ/мл)	3,39 \pm 1,16	5,01 \pm 2,6	p < 0,001
ПРЛ (мМЕ/мл)	235,1 \pm 138,7	212,8 \pm 123,3	p < 0,43
ТТГ (мМЕ/л)	1,91 \pm 0,73	2,21 \pm 1,49	p < 0,13
Эстрадиол (пмоль/л)	82,49 \pm 48,3	136,5 \pm 92,7	p < 0,001
Прогестерон (нмоль/л)	2,34 \pm 0,93	2,73 \pm 1,43	p < 0,08

Повышение уровня эстрадиола указывает на усиленную ароматизацию тестостерона в периферических тканях. Недостаток тестостерона приводит к увеличению синтеза ЛГ для активации метаболизма холестерина и увеличения субстратов стероидогенеза и усиления синтеза андрогенов. Кроме того, известно, что цитокины (IL-1 β) способны ингибировать стероидогенез в клетках Лейдига, что способствует угнетению синтеза тестостерона. Таким образом, повышенный уровень эстрадиола и ЛГ, очевидно, свидетельствует о субклиническом андрогенном дефиците, что может негативно сказываться не только на подвижности сперматозоидов, но и на их количестве, поскольку в основной группе у 21 пациента (21%) выявлено снижение количества сперматозоидов.

Недостаток тестостерона приводит к нарушению восстановления гематотестикулярного барьера после реструктуризации, а повышение проницаемости барьера может вызвать образование АСАТ.

В основной группе изменения обнаружены не только в уровнях ЛГ и эстрадиола, но и тестостерона, ФСГ, ТТГ, прогестерона, пролактина, вследствие

чего возникает гормональный дисбаланс, что свидетельствует о необходимости комплексного гормонального обследования пациентов с бесплодием.

Частота хромосомной патологии выше у мужчин с различными изменениями сперматозоидов и составляет не менее 5–15% у таких пациентов. В группе сравнения у всех пациентов выявлен нормальный мужской кариотип. У одного пациента основной группы обнаружено укорочение длинного плеча Y-хромосомы (делеция фрагмента). В Y-хромосоме локализованы участки, в которых содержатся гены, контролирующие сперматогенез. Утрата такого участка приводит к нарушению сперматогенеза, которое обычно проявляется снижением количества сперматозоидов и нарушением их подвижности. Эти данные показывают, что вклад хромосомных нарушений в развитие астенозооспермии составляет 1%.

В результатах общего анализа крови и общего анализа мочи достоверных различий между группами не обнаружено. Исследование отделяемого уретры проводилось с целью выявления возбудителей острого воспалительного процесса в урогенитальном тракте, в частности, возбудителей гонореи и трихомониаза, являющихся частой причиной мужского бесплодия. При исследовании отделяемого уретры лишь в шести случаях (6%) у пациентов основной группы были выявлены признаки воспаления, проявившиеся повышением количества лейкоцитов в материале. На момент обследования ни у одного пациента обеих групп не обнаружено *Tr. vaginalis* и *N. Gonorrhoeae* и не выявлено патологических изменений в секрете предстательной железы.

Из анамнестических сведений внимания заслуживают факторы, которые чаще определены в основной группе, а именно: наличие хронического простатита вне обострения, ЗППП в анамнезе и варикоцеле. Как известно, эти факторы способны приводить к образованию АСАТ, поддерживать вялотекущее воспаление в урогенитальном тракте, являясь источником активных форм кислорода, способствовать увеличению уровня провоспалительных цитокинов.

Количество курящих и употребляющих алкоголь пациентов в обеих группах достоверно не отличается. Но в одних случаях астенозооспермия возникает, а в

других – нет. Скорее всего, и алкоголь и никотин оказывают опосредованное действие на процесс созревания сперматозоидов путем снижения антиоксидантной защиты, а также изменения гормонального статуса, поскольку у пациентов, курящих и употребляющих алкоголь, по данным литературы, диагностируется снижение уровня ФСГ, ЛГ, тестостерона, повышение уровня эстрадиола. Видимо, рассматриваемые факторы являются отягощающими на фоне присутствия инфекционного агента в урогенитальном тракте и гормонольно-метаболических нарушений.

В заключение следует отметить, что вклад различных факторов в развитие астенозооспермии не равноценен, но все они патогенетически связаны между собой и изменение одних параметров может повлечь за собой изменение других, приводя, в конечном итоге, к повреждению ультраструктур сперматозоидов, которые отвечают за их подвижность.

Выводы

1. Антиспермальные антитела в сыворотке крови и на поверхности сперматозоидов даже в пределах референтного интервала приводят к развитию астенозооспермии путем прямого цитотоксического действия на сперматозоиды и их агглютинации.

2. При астенозооспермии выявлено увеличение уровня ИЛ-6 в периферической крови, что указывает на развитие воспалительного процесса на системном уровне, а наличие инфекционного агента в урогенитальном тракте приводит к развитию локальной воспалительной реакции, о чем свидетельствует повышение уровня ИЛ-1 β в семенной жидкости.

3. Наиболее часто в урогенитальном тракте мужчин выявляются условно-патогенные микроорганизмы, такие как *U. parvum*, *E.coli*, определяемый титр позволяет предположить бактерионосительство.

4. Установлено достоверно значимое повышение глюкозы, уровней лютеинизирующего гормона и эстрадиола у мужчин с нарушением подвижности сперматозоидов.

5. Хромосомные изменения в развитии астенозооспермии составляют 1%.

6. При астенозооспермии преобладают сперматозоиды с патологическими изменениями митохондрий и/или наличием гиперплазированной ядерной мембраны, самыми стабильными являются ультраструктуры аксонемы и фиброзного слоя жгутиков сперматозоидов; дополнительным фактором бесплодия являются повреждения хроматина и акросомы, выявленные при обследовании.

7. Нарушение подвижности сперматозоидов и связанное с этим мужское бесплодие обусловлено комплексным воздействием иммунологических, гормонально-метаболических и инфекционных факторов на мужскую репродуктивную систему.

Практические рекомендации

В алгоритм обследования мужчин с нарушением подвижности сперматозоидов, страдающих бесплодием, рекомендуется включить следующие виды лабораторных исследований:

1. Электронно-микроскопическое исследование эякулята.

2. Диагностика инфекций урогенитального тракта, в том числе выявление условно-патогенной микрофлоры.

3. Иммунологическое обследование: определение концентрации антиспермальных антител в сыворотке крови, в семенной жидкости и на поверхности сперматозоидов; уровня провоспалительных цитокинов как маркеров скрытого воспалительного процесса.

4. При исследовании гормонального статуса мужчин, страдающих бесплодием необходимо определять не только уровень тестостерона, но и уровни ЛГ и эстрадиола с целью выявления субклинической недостаточности андрогенов.

5. Цитогенетическое исследование должно проводиться в случае, когда исключены наиболее распространенные причины астенозооспермии или выявлены грубые изменения морфологии сперматозоидов (тератозооспермия).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. **Пичугова С.В.** Варианты ультраструктурной патологии сперматозоидов при мужском бесплодии / С.В. Пичугова, Л.Г. Тулакина, А.В. Клейн, Я.Б. Бейкин // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2012. - № 1(38). - С. 72-75. (Импакт-фактор РИНЦ – 0,054).

2. **Пичугова С.В.** Интерлейкины при бесплодии у мужчин / С.В. Пичугова, Л.Г. Тулакина, А.Ю. Еременко, Э.И. Вайнберг // Вестник уральской медицинской академической науки. - 2012. - № 4. - С. 147. (Импакт-фактор РИНЦ – 0,054).

3. **Пичугова С.В.** Морфо-функциональные изменения сперматозоидов при урогенитальной инфекции / В.А. Черешнев, С.В. Пичугова, Л.Г. Тулакина, С.М. Розанова, Н.Н. Сбитнева, И.В. Рыбина, Я.Б. Бейкин // Вестник уральской медицинской академической науки. - 2013. - № 2(44). - С. 88-92.

4. **Пичугова С.В.** Ультраструктура сперматозоидов при астенозооспермии / С.В. Пичугова, Л.Г. Тулакина, А.В. Клейн, Я.Б. Бейкин // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2012 - № 1(38). - С. 67-71. (Импакт-фактор РИНЦ – 0,054).

Монография

5. **Пичугова С.В.** Ультраструктура сперматозоидов в норме и при патологии / В.А. Черешнев, С.В. Пичугова, Л.Г. Тулакина, А.В. Клейн, Т.Л. Савинова, Я.Б. Бейкин. – Екатеринбург: РИО Уро РАН, 2013. - 84 с.

Прочие публикации

6. **Пичугова С.В.** Электронно-микроскопическое исследование эякулята / С.В. Пичугова, Л.Г. Тулакина, Я.Б. Бейкин // XXIII Российская конференция по электронной микроскопии: тез. докл. (г.Черноголовка, 31 мая – 4 июня). – Черноголовка, 2010. - С. 335.

7. **Пичугова С.В.** Ультраструктурная патология сперматозоидов при астенозооспермии / С.В. Пичугова, Л.Г. Тулакина, К.П. Фалеев, А.В. Клейн, Я.Б. Бейкин // Фундаментальная и практическая андрология: науч. практ. конф. (Москва, 13 окт. 2012г.): электр. ресурс: www.lsmr.ru

8. **Пичугова С.В.** Урогенитальные инфекции, как причины морфо-функциональных изменений сперматозоидов / С.В. Пичугова, Л.Г. Тулакина, Н.Н. Сбитнева, И.Г. Стародубова, Я.Б. Бейкин // МД : VIII Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. участием. - М., 2014. – Т.1. – С.182-183.

9. **Пичугова С.В.** Урогенитальная инфекция как фактор морфо-функциональных изменений сперматозоидов / С.В. Пичугова, Л.Г. Тулакина, Я.Б. Бейкин // Журнал

Инфектологии: III Конгресс Евро-Азиатского общества по инфекц. болезням: (Екатеринбург, 21 – 23 мая). –2014. – Т.6, № 2. – С.79.

10. **Пичугова С.В.** Электронная микроскопия в диагностике бактериоспермии / С.В. Пичугова, Л.Г. Тулакина, Я.Б. Бейкин // XXV Российская конференция по электронной микроскопии: тез. докл. (г.Черноголовка, 2 – 6 июня). –2014. – Т.2. - С. 620 - 621.

Перечень сокращений

АСАТ – антиспермальные антитела

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ГБОУ ВПО – государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования

ГБУЗ СО ОДКБ – государственное бюджетное учреждение здравоохранения

Свердловской области областная детская клиническая больница

ЗППП – заболевания, передающиеся половым путем

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛГ - лютеинизирующий гормон

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

МАУ – муниципальное автономное учреждение

МБУ ДГБ – муниципальное бюджетное учреждение детская городская больница

ПРЛ – пролактин

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РМП – реакция микропреципитации

РПГА – реакция прямой гемагглютинации

ТТГ – тиреотропный гормон

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ЭМИС – электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов

Ig – иммуноглобулины

IL– интерлейкины

Пичугова
Светлана Владимировна

**РОЛЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ, ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ,
ИНФЕКЦИОННЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИИ
АСТЕНОЗОСПЕРМИИ У МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология
03.03.01 - физиология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук