

Российская академия наук  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт иммунологии и физиологии  
УрО РАН

УДК 616.697: 611.013.11

*На правах рукописи*

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

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

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

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

Екатеринбург – 2014

## СОДЕРЖАНИЕ

	С.
Введение.....	3
Глава 1. Проблема нарушения репродуктивной функции у мужчин.....	9
1.1 Морфология и ультраструктура сперматозоидов.....	10
1.2 Значимость иммунологических факторов в развитии астенозооспермии.....	17
1.3 Особенности гормонального фона при нарушении подвижности сперматозоидов.....	25
1.4 Влияние нарушения обмена веществ на фертильность.....	33
1.5 Урогенитальные инфекции как причина нарушения репродуктивной функции.....	35
1.6. Роль генетических факторов в формировании инфертильности.....	37
1.7 Варикоцеле как причина бесплодия .....	39
1.8 Роль экологических и социальных факторов в развитии бесплодия.....	41
Глава 2. Материал и методы исследования.....	44
2.1 Спермограмма.....	45
2.2 Электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов.....	46
2.3 Диагностика урогенитальных инфекций.....	47
2.4 Иммунологические исследования.....	47
2.5 Общеклинические исследования.....	49
2.6 Гормональные исследования.....	50
2.7 Биохимические исследования.....	51
2.8 Цитогенетическое обследование.....	51
2.9 Диагностика ВИЧ.....	52
2.10 Диагностика сифилиса.....	53
Глава 3. Результаты исследования причин нарушения подвижности сперматозоидов.....	55

Глава 4. Анализ механизмов развития астенозооспермии.....	118
Заключение.....	133
Выводы.....	137
Практические рекомендации.....	138
Список литературы.....	139
Перечень сокращений.....	168

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Бесплодный брак остается одной из важнейших социальных и медицинских проблем [16, 310]. Отмечено нарастание удельного веса мужского фактора как причины бесплодия и сейчас он составляет не менее 40% [37, 231, 205, 186]. Мужчина, являясь равноправным участником репродуктивного процесса, характеризуется более высокой заболеваемостью и смертностью, меньшей продолжительностью жизни [77, 100, 203, 204]. Все это предполагает наличие у мужчин проблем и с репродуктивным здоровьем. Обследование мужчин характеризуется гораздо меньшим риском для здоровья, так как не требует применения инвазивных процедур и может быть выполнено в более короткие сроки. Но даже при этих условиях причина мужского бесплодия при обследовании в специализированных клиниках бывает не установлена в 25% случаев [18, 240].

Анализ большого количества спермограмм доноров спермы разных стран, показал изменение следующих показателей [224]:

- снижение средней концентрации сперматозоидов в 1 мл эякулята;
- уменьшение объема эякулята;
- уменьшение содержания подвижных сперматозоидов;
- уменьшение доли морфологически нормальных половых клеток.

Причины, которые ведут к снижению качества спермы, многообразны [240]. По данным различных авторов считается, что инфекционно-воспалительные заболевания уrogenитального тракта [177, 85, 58, 295], эндокринные расстройства [246, 130, 187], иммунное бесплодие [193, 59], варикоцеле [214, 36, 302, 271], наркомания [226, 292], курение и алкоголизм [96, 333, 140, 233], факторы образа жизни и состояние здоровья оказывают неблагоприятное влияние на мужскую репродуктивную систему [175, 110, 176, 168].

Широко распространено мнение, что для оценки фертильности мужчин достаточно исследования эякулята [94]. Безусловно, спермограмма,

включающая в себя оценку концентрации, подвижности и морфологии сперматозоидов, является обязательной в диагностике нарушений репродуктивной функции мужчины [237]. Но диагноз «бесплодие» не может быть выставлен только лишь на основании анализа спермы, поскольку спермограмма является сложной лабораторной процедурой, и на ее результат могут влиять разные факторы.

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 [89, 220]. 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 [152, 252]. Качественно проведенный анализ спермы указывает только на вероятность бесплодия. Поэтому для трактовки полученных данных важно иметь результаты анамнеза и осмотра, лабораторных и инструментальных исследований [167]. Пренебрежение к тщательному всестороннему обследованию ведет к увеличению количества ошибок в диагностике бесплодия, поскольку именно многофакторность патогенеза мужского бесплодия очень затрудняет диагностический процесс и лечение [237, 115].

Мужское бесплодие является причиной репродуктивного неблагополучия 30 – 50% супружеских пар. В сравнении с достигнутыми успехами в лечении женского бесплодия терапия мужского бесплодия остается малоэффективной [289]. Поэтому, исследования в области этиологии и патогенеза, диагностики и лечения мужского бесплодия актуальны и приоритетны [101]. Предполагается, что различные, в том числе и неизвестные при идиопатической форме бесплодия, этиологические факторы инициируют сходные патологические процессы, которые приводят к изменению качества сперматозоидов [90, 83].

Необходимость в новых технологиях, позволяющих с большей вероятностью оценить степень нарушения репродуктивной функции у

мужчин, возникла из-за отсутствия надежности в предоставлении прогностической информации при использовании анализа эякулята [245]. 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 и семенной жидкости, нарушение метаболизма и изменение гормонального статуса, персистенции патогенной и условно-патогенной микрофлоры в урогенитальном тракте, наличие 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**

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 урогенитальном тракте 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 различных 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.** 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.), на конференции «Фундаментальная и практическая андрология» (г. Москва, 2012г.), на 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, 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 176 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.

## Глава 1

# ПРОБЛЕМА НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У МУЖЧИН

### (обзор литературы)

Мужское бесплодие – это следствие патологических процессов в организме, а также внешних воздействий на репродуктивную систему или их комбинация, способствующих развитию патоспермии [240]. Среди отечественных специалистов наиболее распространена классификация форм мужского бесплодия, разработанная О.Л. Тектинским, согласно которой выделяют следующие формы мужского бесплодия [48].

1. *Обтурационная*, характеризуется тем, что созревание сперматозоидов в яичках не нарушено, но на пути следования сперматозоидов в мочеиспускательный канал имеется препятствие (сужение участка семявыносящего тракта, спайка, оставшаяся после воспалительного или инфекционного процесса, рубец после операции, киста или опухоль половых или близлежащих органов).

2. *Секреторная* форма диагностируется в тех случаях, когда яички не могут производить нормальные сперматозоиды в количестве, достаточном для оплодотворения яйцеклетки, вследствие генетических факторов, гормональных нарушений, тяжелых хронических заболеваний (сахарный диабет), перенесенных воспалительных заболеваний половых органов (орхит, эпидидимит), в том числе заболеваний передающихся половым путем, а также водянка яичка, варикоцеле, перекрут яичка и т.д. К факторам, провоцирующим эти заболевания, относятся белковая недостаточность, авитаминоз, профессиональные риски (ионизирующее облучение, работа в условиях высокой температуры, контакт с токсическими веществами).

3. *Иммунологическая* форма бесплодия развивается, как правило, после травмы яичка. В нормальных условиях ткани яичка отграничены от кровотока гематотестикулярным барьером. При травме яичек этот барьер может

повреждаться и ткани яичек контактируют с иммунными клетками крови. Клетки яичек начинают восприниматься организмом как чужеродные образования (антигены), что вызывает аутоиммунную реакцию с образованием антител, направленных против тканей яичек. Антитела также могут вырабатываться непосредственно к сперматозоидам. Антиспермальные антитела (АСАТ) способны блокировать сперматогенез, нарушать подвижность сперматозоидов.

Негативное воздействие на сперматогенез факторов, которые участвуют в регуляции репродуктивной функции (гормоны, цитокины, белки, углеводы, липиды и др.), будет проявляться при отклонении их уровней от принятого референтного интервала. Другие факторы и состояния оказывают непосредственное повреждающее воздействие на репродуктивную систему (инфекционные агенты, АСАТ, неблагоприятные экологические факторы, курение, алкоголь, наркотики, варикоцеле). Тем не менее, остается недостаточно изученным вопрос о том, какие изменения происходят в сперматозоидах на ультраструктурном уровне при нарушении их подвижности при комплексном воздействии различных факторов на мужскую репродуктивную систему.

### **1.1 Морфология и ультраструктура сперматозоидов**

Несмотря на многообразие причин нарушения репродуктивной функции мужчин, анализ эякулята является основным среди всех методов лабораторно-инструментального исследования, используемых для определения функционального состояния половых желез и фертильности мужчин. Анализ эякулята стал более полным и предоставляет врачу важную клиническую информацию о сперматогенезе и функциональной компетентности сперматозоидов [70].

Сперматозоид - узкоспециализированная клетка и все его органеллы предназначены для выполнения функции оплодотворения.

Параметры нормального сперматозоида по данным светооптической микроскопии подробно описаны [16, 33].

Тем не менее, исследование сперматозоидов только с помощью оптического микроскопа может предоставить ограниченную информацию относительно их внутренней структуры [238]. Метод электронной микроскопии позволяет детально изучить внутреннее строение сперматозоида и значительно дополнить существующие методы диагностики мужского бесплодия.

Головка нормального, морфологически зрелого сперматозоида состоит из ядра с плохо различимой ядерной оболочкой и гомогенной, плотно упакованной, гиалиноподобной массой хроматина, в которой отдельные гранулы и фибриллы не выявляются [6]. Уплотнение хроматина важно для сперматозоида, как подвижного носителя генома и необходимо для успешной передачи генетического материала при оплодотворении [163].

Акросома расположена на переднем конце головки сперматозоида. Она формируется во время сперматогенеза и является производным аппарата Гольджи [99]. В состав мембран акросомы входит белок акрозин [127]. Акросома зрелого сперматозоида занимает  $\frac{2}{3}$  головки (40-70% ее площади) и плотно прилежит к ядерной мембране, оставляя лишь небольшую постакросомальную зону. Акросома содержит гидролитические ферменты, расщепляющие оболочки яйцеклетки. Размер и форма акросомы особенно важны для взаимодействия сперматозоида с овоцитом так как это обеспечивает формирование «правильной» зоны pellucida, необходимой для закрепления сперматозоида в яйцеклетке [73].

Шейка сперматозоида имеет сложное строение. Она включает в себя центриолярный комплекс, состоящий из двух центриолей, который совместно с аксонемой формируют участок, соединяющий головку сперматозоида и жгутик [7]. В процессе сперматогенеза жгутик растет из центриолярного комплекса, который приближается к ядру и присоединяет его к хвостовому полюсу, обеспечивая выравнивание жгутика с продольной осью головки [85].

Центриоли - очень мелкие органеллы. Они имеют уникальную структуру, представленную девятью триплетами. Центриоль участвует в организации цитоскелета, устанавливает полярность клетки, управляет клеточным делением, в том числе и в сперматозоидах [275, 276].

В жгутике сперматозоида выделяют три отдела: средний, основной и концевой [144]. Аксонема – основной элемент жгутика. Она представляет собой цилиндр, состоящий из девяти пар микротрубочек по периферии и одной пары микротрубочек в центре, организованных по универсальной схеме, характерной для жгутиков клеток эукариотических организмов. Периферические дуплеты соединены между собой динеиновыми ручками, состоящими из структурного белка динеина и активной АТФ-азой, которая использует АТФ как источник энергии для осуществления движения. Аксонема расположена на протяжении всей длины жгутика. В среднем отделе аксонема жгутика окружена слоем из девяти дополнительных фибрилл, снаружи от которых расположены митохондрии [85, 328]. Мембрана митохондрий двуконтурная, кристы хорошо визуализируются, митохондриальный матрикс гомогенного вида. Волокнистое влагалище – уникальная цитоскелетная структура, окружающая аксонему. Оно состоит из двух продольных столбцов, связанных полукруглыми ребрами. Полагают, что эта структура влияет на степень гибкости жгутика [113]. В основном отделе жгутика аксонему окружает фиброзный слой, а в концевом отделе остается только аксонема, окруженная цитоплазматической мембраной.

Таким образом, ультраструктурная организация органелл сперматозоида играет значительную роль для жизнедеятельности клетки и осуществления ее основной функции – оплодотворения.

Метод ЭМИС позволяет определять характер компактизации хроматина ядер сперматозоидов [5]. Аномальная конденсация хроматина сперматозоидов выражается в наличии грубогранулярного и фибриллярного компонентов нуклеоплазмы. Для таких ядер употребляется термин «незрелый хроматин».

Отмечено, что у мужчин, страдающих бесплодием, чаще встречаются сперматозоиды с патологическим, низко конденсированным хроматином [79].

Нарушение компактизации хроматина может быть обусловлено недостатком белков-протаминов [71, 325], в состав которых входит цистеин, стабилизирующий нуклеопротеидные комплексы [308], а также протамины содержат большое количество положительно заряженных аминокислот, которые способствуют конденсации ДНК, поскольку ДНК имеет отрицательный заряд.

В ряде работ указывается, что недостаточная конденсация хроматина коррелирует с наличием в ядре сперматозоида хромосомных aberrаций [178, 320]. Поэтому оценка состояния хроматина важна при выборе репродуктивных технологий, так как высок риск передачи и закрепления в потомстве хромосомных аномалий [227, 225].

Незрелость хроматина может быть обусловлена воспалительными заболеваниями уrogenитального тракта, варикоцеле, а также воздействием различных химических и физических факторов [99]. В основе этих воздействий лежит оксидантный стресс, приводящий к фрагментации ДНК, выключение механизмов ее репарации и, соответственно, потеря геномной целостности [55, 63, 125]. При этом, зачастую, аномальный хроматин выявляется в сперматозоидах с нормальной морфологией. Такая патология не является генетически обусловленной и корректируется терапевтическими методами [72, 98].

Для оценки изменений акросомы используются различные виды функциональных тестов [173], специальных красок [129, 136] и электронная микроскопия.

Ультраструктурные изменения строения акросомы диагностируют в эякуляте с отрицательными функциональными тестами, при этом, не всегда отмечается ухудшение параметров спермограммы [98]. Электронно-микроскопическим методом можно обнаружить следующие дефекты акросомы, не определяющиеся при световой микроскопии: деформация акросомы,

отхождение ее от ядра, дупликация акросомы, наличие внутриакросомных вакуолей, гипоплазию и агенезию акросомы.

Наиболее часто агенезия акросомы регистрируется при глобулозооспермии. При этом встречаются округлые головки с полностью отсутствующей акросомой (1 тип) или округлые головки с миниакросомными дефектами и гипоплазией акросомы (2 тип), с сохранной акросомной реакцией [293, 128].

Описаны случаи семейного синдрома округлых головок [207], поэтому можно предположить генетическую природу глобулозооспермии и, скорее всего, полигенный тип наследования в зависимости от типа мутации гена.

Агenez акросомы приводит к абсолютному бесплодию, поскольку такие сперматозоиды не способны прикрепиться к мембране овоцита [274]. При использовании репродуктивных технологий важно правильно оценить степень риска передачи генетического дефекта потомству, так как отмечено нарастание количества анеуплоидий у пациентов с глобулозооспермией и агенезией акросомы [206].

Из патологических дефектов шейки можно отметить нарушение связи между шейкой и головкой сперматозоида, приводящее к образованию ацефалических сперматозоидов. Такой дефект сперматозоидов образуется в результате нарушения миграции центриоли к хвостовому полюсу ядра в процессе сперматогенеза. Морфологически дефект проявляется жгутиками без головки. Пациенты бесплодны, и даже, если в результате применения репродуктивных технологий происходит оплодотворение, дальнейшее развитие зиготы невозможно из-за нарушений центриолярного комплекса [98]. Дефекты строения центриоли ведут к центриолярной дисфункции, которая коррелирует с частотой анеуплоидий, многоплоидностью и мозаицизмом, что может быть причиной ранней потери эмбриона [275].

В том или ином количестве сперматозоиды с аномалиями аксонемы встречаются и у фертильных мужчин, но при множественных грубых дефектах можно предположить связь с генетической патологией [208]. Патология

жгутика может быть связана с отсутствием денеиновых ручек, центральной или периферической пар дуплетов, нарушением дополнительных фибрилл и фиброзного слоя, патологией митохондрий [57, 123].

Нарушение подвижности сперматозоидов может быть обусловлено отсутствием денеиновых ручек в структуре аксонемы [57, 321]. Неподвижность сперматозоидов сочетается с неподвижностью ресничек респираторного тракта, что клинически проявляется хроническими синуситами, бронхоэктазами, инвертированным положением внутренних органов, бесплодием – признаки синдрома Картагенера, варианта первичной цилиарной дискинезии [117].

Дисплазия фиброзного слоя характеризуется выраженной астенозооспермией или полной неподвижностью сперматозоидов. Морфологически при световой микроскопии выявляются короткие утолщенные жгутики, а при электронной микроскопии обнаруживается отсутствие характерных продольных и поперечных колец фиброзного слоя, гиперплазия неорганизованно расположенных фибрилл фиброзного слоя. Дисплазия фиброзного слоя имеет семейный характер, предполагается, что это генетически обусловленный дефект, не поддающийся терапевтической коррекции [99, 274].

Качественные изменения митохондрий – набухание крист, просветление митохондриального матрикса могут быть генетически обусловленными и связаны с нарушением синтеза АТФ. Но наиболее часто они связаны с инфекционным процессом урогенитального тракта, с воздействием неблагоприятных факторов окружающей среды, приемом лекарственных препаратов [61]. Такие изменения, обычно, носят обратимый характер. Митохондрии обладают автономным ДНК [283]. Каждая точечная мутация, вызванная действием свободных радикалов, может нарушить синтез АТФ, которая на ранних стадиях сперматогенеза необходима для биосинтеза структурных белков, а в зрелых сперматозоидах – для движения: именно поэтому повреждение митохондрий приводит к снижению подвижности сперматозоидов [305, 314, 75].



Частичное или полное отсутствие митохондрий является редкой патологией сперматозоидов, генетическая причина которых включает два варианта. В первом случае митохондрии отсутствуют вокруг аксонемы и средний отдел выглядит тонким, что приводит к тяжелой астенозооспермии. Во втором случае нарушена спиральная упаковка митохондрий. Такая патология рассматривается как вариант дисплазии фиброзного слоя [99].

Подвижность сперматозоидов – важный момент в процессе оплодотворения. Сперматозоиды с дефектами строения аксонемы не могут продвигаться по женским половым путям, но сохранная акросомная реакция и способность проникать внутрь овоцита делает возможным их участие в оплодотворении. Применение репродуктивных технологий позволяет достичь наступления беременности, но в этих случаях пациент должен быть предупрежден о возможном наследовании аномалий потомством [82].

Происхождение такого ультраструктурного дефекта, как гиперплазированная ядерная мембрана в литературе практически не освещается. В процессе сперматогенеза возникает повреждение ядерной мембраны, влекущее за собой изменение ее физико-химических свойств: текучести и мембранного потенциала. При созревании сперматозоида происходит уплотнение хроматина, что приводит к избыточности и гиперплазии изменившейся ядерной мембраны. Часть цитоплазмы с митохондриями и участками избыточной ядерной мембраны смещается в хвостовом направлении и занимает всю шейку сперматозоида или в виде крупной цитоплазматической капли локализуется в области нижней части головки сперматозоида и средней части жгутика, при этом существенно ограничивая его подвижность [314].

Используя метод электронной микроскопии, можно обнаружить тип ультраструктурных изменений при астенозооспермии и определить выбор дальнейшей репродуктивной тактики для бесплодной пары.

## 1.2 Значимость иммунологических факторов в развитии астенозооспермии

Иммунологическая форма бесплодия выделена в отдельную нозологию. Иммунная система играет важную роль в репродукции человека, а изменение иммунного гомеостаза может нарушить нормальный репродуктивный процесс и привести к бесплодию. Аутоиммунные нарушения в мужском организме возможны при любом заболевании или повреждении (травмы, воспаление) любого из органов мочеполовой системы. Установлено, что воспалительный процесс, обусловивший аутоиммунные нарушения, может быть излечен, но сами аутоиммунные процессы купировать не удается и они продолжают оставаться причиной нарушения фертильности [52]. Образование антиспермальных антител, которые обнаруживаются в крови или жидкостях репродуктивного тракта, выступает одним из иммунологических факторов бесплодия [244]. По своей природе АСАТ бывают агглютинидами или иммобилизинами, что обуславливает характер их взаимодействия со сперматозоидами [80, 218]. В первом случае подвижность сперматозоидов ограничивается в результате их склеивания, во втором – происходит разрушение сперматозоидов в присутствии комплемента. В итоге оба этих процесса приводят к нарушению оплодотворения. Кроме того, АСАТ могут препятствовать взаимодействию гамет из-за блокирования поверхностных рецепторов [52, 14, 21, 287]. Предполагается, что иммунологическое бесплодие – это следствие комбинированного действия многих АСАТ, что препятствует взаимодействию сперматозоида с яйцеклеткой, нарушает процесс имплантации зиготы или задерживает эмбриональное развитие [20]. АСАТ вырабатываются как у женщин в ответ на чужеродные антигены спермы партнера и чаще бывают иммобилизинами, так и у мужчин к собственным сперматозоидам и чаще бывают агглютинидами [14, 35]. АСАТ обнаруживаются у 9-36% бесплодных пар, в то время как у пар, имеющих детей, количество случаев выявления АСАТ составило с 0,9-4% [299].

### 1.2.1 Антигены сперматозоидов

Спектр антигенов сперматозоидов очень широк. Сперматозоиды содержат только им присущие антигены (аутоантигены), антигены, общие с щитовидной железой, селезенкой, печенью, легкими, почками (аллоантигены) и антигены, одинаковые у представителей разных видов (ксеноантигены) [14]. Наиболее подробно изучены спермальные антигены YWK-II, BE-20, r SMP-B, 55-63, BS-YI, HED-2, ассоциированные с бесплодием, а также кодирующие их гены. Каждый из этих антигенов синтезируется разными клетками репродуктивного тракта (половыми, клетками эпителия придатка яичка и клетками Сертоли) и отличается от остальных по структуре [21].

**Антиген YWK-II.** Антиген YWK-II локализован в экваториальном секторе головки сперматозоида; влияет на внутриклеточный цАМФ-зависимый путь передачи сигнала и фосфорилирования белков в сперматозоидах, таким образом, регулируя их подвижность и обеспечивая капацитацию [21]. Нарушение фертильности анти-YWK-II – антитела вызывают разными механизмами: они способны агглютинировать сперматозоиды, препятствовать взаимодействию сперматозоидов с яйцеклеткой и задерживать рост и развитие зигот или эмбрионов.

**Антиген BE-20.** Белок BE-20 синтезируется клетками придатка яичка. При прохождении сперматозоидов через просвет придатка он обволакивает оболочку сперматозоидов, благодаря чему сперматозоиды приобретают подвижность и способность к оплодотворению [21]. Структурно белок BE-20 относится к семейству внеклеточных ингибиторов протеаз и может поддерживать целостность акросомы и предупреждать ее преждевременный или спонтанный лизис. Следовательно, антитела к белку BE-20 могут инактивировать ингибиторы протеаз, тем самым нарушая созревание сперматозоидов, инициировать преждевременный лизис акросомы протеазами, приводя к утрате сперматозоидами своих оплодотворяющих свойств.

**Антиген r SMP-B (спермальный хвостовой антиген).** Белок r SMP-B является специфическим фактором, необходимым для индукции синтеза специализированных структурных и функциональных компонентов для формирования хвостовой области [21]. Жгутик формируется в половых клетках на стадии сперматиды и является уникальной клеточной структурой сперматозоида. Экспериментальные результаты показали, что антитела, образующиеся при иммунизации r SMP-B, могут блокировать проникновение сперматозоидов в яйцеклетку, вызывать блокаду сперматогенеза, приводящую к азооспермии.

**Антиген BS-17 (кальпаSTATIN).** Антиген BS-17 локализован в акросомальной области. Антитела к нему обладают выраженной агглютинирующей способностью, блокируют способность сперматозоидов проникать в яйцеклетку, но не влияют на прикрепление сперматозоидов к поверхности яйцеклетки или на их подвижность [219].

**Антиген EP-20 (антиген клеток Сертоли).** Антиген EP-20 является гликопротеином, продуцируемым клетками Сертоли. Этот антиген участвует в регуляции структурных изменений и биохимических модификаций, связанных с экспрессией специфических генов, необходимых для созревания сперматозоидов [13, 21]. Антитела к антигену EP-20 агглютинируют и иммобилизируют сперматозоиды, препятствуют проникновению сперматозоида в яйцеклетку.

В последние годы выявлено еще несколько антигенов спермы, обычно не обладающих агглютинирующей активностью, но имеющих значение при иммунологическом бесплодии. Часть из них секретируется ацинарными клетками предстательной железы (простасомы) и попадает в спермальную жидкость во время эякуляции. Прикрепляясь к сперматозоидам, простасомы исполняют роль антигенов, вызывая образование АСАТ [21].

**Антиген SCA (скаферрин).** Скаферрин вырабатывается в семенных пузырьках яичка и абсорбируется на эпидидимальных сперматозоидах, выполняя защитную функцию сперматозоидов во время миграции их в

женском репродуктивном тракте. Полагают, что протективный эффект связан с его сходством с антигенами цервикальной слизи и внутриматочной среды («антигенная мимикрия» сперматозоидов). Капацитация – процесс утраты сперматозоидами этого антигена в женском половом тракте, что является необходимым условием для оплодотворения [14].

В настоящее время известно около 40 антигенов эякулята мужчин, способных вызывать образование антител. Кроме того, антигены семенной плазмы могут быть существенно модифицированы бактериями. Все антигены способны вызывать аутоиммунитет, приводящий к бесплодию [52].

### **1.2.2 Антиспермальные антитела (АСАТ)**

АСАТ относятся к JgG или JgM и их взаимодействие со сперматозоидами зависит от присутствия комплемента (сперматозоиды сначала теряют подвижность, а затем погибают). АСАТ образуются в различных отделах репродуктивного тракта мужчин (яички, придаток яичка, семявыносящие протоки) и могут быть направлены против разных частей сперматозоида (головка, жгутик, средняя часть или их комбинация) [287]. Титрование антиспермальных сывороток показало, что антитела в титрах до 1:32 не препятствуют фертильности, но в более высокой концентрации антитела могут стать причиной бесплодия. Большинство иммунных сывороток с титрами антител выше 1:32 содержало JgG, четверть из них – JgM, и лишь в отдельных сыворотках присутствовали JgA [52, 14, 80].

До начала периода полового созревания мальчиков сперма не образуется в организме и ее специфические антигены не распознаются иммунной системой как «свои». Тем не менее, сперматозоиды не атакуются иммунной системой, поскольку защищены гематотестикулярным барьером, локализованным между семенными канальцами и кровеносными сосудами, от контактов с иммунокомпетентными клетками [2]. Гематотестикулярный барьер защищает клетки яичка от попадания иммунных клеток в семенные канальцы. Однако,

небольшое количество сперматозоидов может выходить за пределы этого барьера и попадать в кровь, тем самым запуская иммунный ответ [126]. Существуют иммунологические механизмы защиты:

- иммунологическая толерантность, обусловленная низким порогом проникновения спермальных антигенов;

- иммуномодуляторные механизмы внутри яичек: клеточные (макрофаги, супрессорные клетки) и гуморальные (стероиды), которые могут предотвращать активацию иммунологического распознавания;

- периферическая иммуномодуляция яичек: Т- супрессоры в эпидидимисе (придатке яичка) и иммуносупрессорная активность семенной жидкости (в сперме выделен компонент, который называется «иммуноглобулин связывающий фактор», который, как предполагается, снижает активность В-лимфоцитов и Т-хелперов, таким образом предотвращая продукцию АСАТ в репродуктивном тракте). Существует мнение, что проникновение небольшого числа спермальных антигенов через гематотестикулярный барьер недостаточно для формирования аутоиммунитета и имеет физиологическое значение (индукция иммунологической толерантности к антигенам гамет) [126].

Нарушения гематотестикулярного барьера, такие как травма [159], инфекция [116, 107], варикоцеле [145] или оперативные вмешательства могут способствовать проникновению циркулирующих иммунных клеток в мужской репродуктивный тракт и повышать уязвимость спермы для иммунной системы. Когда это происходит, супрессорная активность Т-клеток подавляется, или антигены репродуктивного тракта попадают через выводящие каналы в сеть яичка. Антигены фагоцитируются макрофагами, которые переносят их в региональные лимфатические узлы. Очевидно, что аутоиммунные реакции к сперме и ее компонентам формируются только тогда, когда имеет место расстройство иммунорегуляторных механизмов или их генетическое ослабление, а также механическое нарушение физиологических барьеров [14].

Аутоиммунитет к антигенам спермы осуществляется непосредственным цитотоксическим воздействием антител на сперматозоиды. Наиболее

изученными являются следующие механизмы. Во-первых, это снижение подвижности сперматозоидов, нарушение их функциональной активности, блокада их проникновения в цервикальную слизь [214]. АСАТ фиксируются на разных участках мембраны сперматозоидов, оказывают тормозящее влияние на них, ограничивая их подвижность в репродуктивном тракте мужчин и женщин. АСАТ могут быть причиной агглютинации и иммобилизации сперматозоидов [214].

Во-вторых, АСАТ могут оказывать влияние на взаимодействие сперматозоида и яйцеклетки, препятствуя проникновению сперматозоидов в блестящую оболочку яйцеклетки путем подавления акросомальной реакции [279, 131, 322].

Если иммунные реакции действуют как вторичные, усиливая повреждение семенников, придатка и добавочных желез, тогда при формировании аутоиммунных реакций происходит постепенное нарушение нормального сперматогенеза с развитием олигоспермии или аспермии [10, 35].

Особенно активная продукция антител к сперматозоидам наблюдается у лиц, подвергшихся вазэктомии [10]. Образующиеся антитела в большинстве случаев являются спермагглютинидами, реже иммобилизинами, циркулируют в крови и снижают способность сперматозоидов передвигаться в цервикальной слизи и пенетрировать яйцеклетку [8, 80].

Кроме антител, циркулирующих в кровотоке, антиспермальные антитела у мужчин присутствуют и в семенной жидкости. Здесь обнаружены антитела классов JgG, JgA и JgE, а крупные молекулы JgM в нее из крови не попадают. Поскольку АСАТ отсутствуют в просветах извитых канальцев и сети яичка, они проникают в семенную жидкость ниже семявыносящего протока. Появление JgG и JgA в эякуляте обычно связано с резким возрастанием их концентрации в крови. Резкое повышение уровня антиспермальных JgA свидетельствует о его локальной продукции главным образом в области простаты. Секрет предстательной железы содержит JgG и JgA, которые не обнаруживаясь в свободном состоянии, могут прочно связываться со сперматозоидами.

Локальные антитела оказывают прямое цитотоксическое воздействие на сперматозоиды и активно участвуют в формировании аутоиммунитета, что приводит к нарушению сперматогенеза [10].

Учитывая тот факт, что АСАТ могут образовываться как у мужчин, так и у женщин, необходимо обследовать обоих партнеров в целях выявления иммунологической причины бесплодия, особенно в тех случаях, когда других причин бесплодия не установлено.

### 1.2.3 Цитокины

В последнее время активно исследуется роль цитокинов в развитии мужского бесплодия [110, 176, 168], поскольку в регуляции сперматогенеза задействованы не только эндокринные, но и аутокринные и паракринные механизмы [17, 278]. Хотя гормональные сигналы обязательны для успешного сперматогенеза, большое количество данных свидетельствуют об участии в этом процессе таких пептидов как цитокины [39, 161]. Цитокины играют важную роль в межклеточных коммуникациях [204, 257]. В эякуляте содержится большое количество цитокинов, причем концентрация некоторых из них значительно превышает концентрацию их в сыворотке крови (IL-6, IL-8), что указывает на их потенциальную роль в регуляции мужской фертильности [234, 134, 215]. Это позволяет предположить, что цитокины оказывают влияние на сперматогенез, поскольку они секретируются клетками Лейдига (IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ ), клетками Сертоли (IL-1a, IL-6, IFN- $\gamma$ ), клетками эпидидимиса, а рецепторы к цитокинам определяются на мембранах мужских половых клеток различной степени дифференцировки и, в том числе, на поверхности зрелых сперматозоидов [306]. Указанные цитокины выполняют в яичке ряд функций: регулируют сперматогенез, дифференцировку зародышевых клеток, синтез протеинов клетками Лейдига, стероидогенез [174]. Цитокины выполняют многообразные функции в эякуляте, участвуя в регуляции сперматогенеза и стероидогенеза, опосредуя взаимодействие между клетками Сертоли и



зародышевыми клетками для облегчения перемещения зародышевых клеток через эпителий семенных канальцев во время их дифференцировки [110]. IL-1 $\beta$  является плейотропным цитокином и присутствует в яичках для поддержания гомеостаза [176]. Он влияет на пролиферацию зародышевых клеток, осуществляет контроль секреции гонадотропинов и тестостерона в яичках [168]. Известно, что IL-6 обеспечивает параметры подвижности, активирует акросомальную реакцию, увеличивает скорость и линейность движения сперматозоидов [237].

Предполагается, что не только локально синтезируемые цитокины, но и цитокины из общего сосудистого русла способны проявлять свои эффекты на тестикулярном уровне. Об этом свидетельствуют факты активного участия цитокинов в формировании гамет и регуляции сперматогенеза [174, 211], а также их вклада в иммуносупрессию семенной плазмы [243]. Известно, что яичко полностью не изолировано от иммунной системы и, несмотря на наличие гематотестикулярного барьера, активно с ней взаимодействует [126]. В дополнение к макрофагам-«резидентам» в яичке присутствуют циркулирующие иммунные клетки, включая Т-лимфоциты [108, 162, 170, 171]. Регулируемая цитокинами продукция простагландинов может приводить как к подавлению, так и к стимуляции локального Т - и В-клеточного ответа.

Тем не менее, вопрос о значимости определения уровня цитокинов в диагностике мужского бесплодия остается спорным. Ряд авторов считают, что цитокины могут быть вовлечены в регуляцию сперматогенеза путем прямого или опосредованного действия на сперматозоиды [152]. Другие придерживаются мнения, что определение уровня цитокинов не дает информации о состоянии мужского репродуктивного тракта [251].

Таким образом, можно предположить, что наряду с традиционно рассматриваемыми причинами мужского бесплодия, иммунологическая форма бесплодия играет существенную роль в нарушении репродуктивной функции и не ограничивается только выявлением антиспермальных антител. Изменение иммунного гомеостаза ассоциируется не только с течением патологического

процесса в мужском репродуктивном тракте, но и с эффективностью сперматогенеза, что может помочь, как в понимании патогенеза мужской инфертильности, так в разработке и использовании новых подходов ее диагностики.

### **1.3 Особенности гормонального фона при нарушении подвижности сперматозоидов**

Оценка гормонального статуса – необходимый компонент в обследовании всех мужчин, у которых выявлены изменения в спермограмме или нарушения сексуальной функции. Зрелые, способные к оплодотворению сперматозоиды – это продукт сложного процесса (сперматогенеза), который зависит от нормального гормонального профиля. Патогенез эндокринного бесплодия у мужчин сложен, поскольку в патологический процесс вовлекается не только ЦНС, гонады, органы - мишени, но и другие отделы нейроэндокринной системы: надпочечники, щитовидная железа, симпато-адреналовая система [47].

При обследовании пациента, страдающего бесплодием, обычно оценивается концентрация тестостерона, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), что позволяет определить тот или иной уровень поражения репродуктивной системы.

#### **1.3.1 Тестостерон**

Тестостерон - основной мужской гормон, начинает вырабатываться семенниками плода мужского пола на 17-ой неделе эмбрионального развития.

Его синтез осуществляется клетками Лейдига (интерстициальные эндокриноциты яичек) [268]. Большая часть синтезированного тестостерона существует в организме в виде устойчивого комплекса, связанного с белками плазмы. Лишь приблизительно 2% тестостерона циркулирует в свободном виде

и затем подвергается интенсивному метаболизму в клетках-мишенях. Значительное количество тестостерона, выделяясь в периферическую кровь, оказывает системное воздействие на мужской организм и осуществляет общее анаболическое действие [297].

Расположенность клеток Лейдига вблизи семенных канальцев создает высокую (в 10 раз выше, чем в периферической крови) концентрацию тестостерона в яичке. Это необходимо для поддержания нормального сперматогенеза внутри комплекса «клетки Сертоли – сперматогенные клетки» [209]. Тестостерон (основной стимулятор сперматогенеза) действует на клетки-мишени только после превращения непосредственно в клетках в более активную форму – дегидротестостерон [109]. Тестостерон поступает в извитые семенные канальцы по ультрамикроскопическим канальцам, в направлении от клеток Лейдига к клеткам Сертоли. Клетки Сертоли синтезируют андроген связывающий белок (АСБ), который связываясь с тестостероном, образует единый комплекс. Этот комплекс секретируется в просвет семенных канальцев, способствуя переносу высококонцентрированного тестостерона из клеток Лейдига, где он образуется, к месту сперматогенеза [24]. Тестостерон в таком комплексе претерпевает структурные изменения и приобретает способность проникать через плазматическую мембрану клетки. Внутри клетки он взаимодействует с рецепторами ядра и органелл, вследствие чего процесс синтеза белка и нуклеиновых кислот существенно трансформируется. Тестостерон замедляет апоптоз зародышевых клеток, способствует синтезу трансфераз, обеспечивающих выход зрелых сперматозоидов в просвет канальца [324].

Секреция тестостерона отчетливо подвергается циркадным и годичным изменениям. Даже незначительные нарушения ритма секреции или малейший дефицит тестостерона могут вызвать нарушение сперматогенеза. В отсутствие тестостерона сперматогенез прекращается на стадии мейоза, клетки Сертоли погибают, начинают активно разрушаться зародышевые клетки, что влечет за собой развитие олигозооспермии и азооспермии [312, 315]. Немаловажно то,

что интенсивность выработки тестостерона уменьшается по мере старения организма. Как правило, уже после 40 лет замедляется сперматогенез и ухудшается качество спермы [183].

Определение уровня тестостерона в сыворотке служит одним из важнейших показателей в диагностике мужского бесплодия.

### **1.3.2 Фолликулостимулирующий гормон**

Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) – гонадотропный гормон, вырабатывается передней долей гипофиза под влиянием рилизинг-гормонов гипоталамуса. В яичках ФСГ способствует активизации сперматогенеза, вызывает пролиферацию клеток Сертоли [268]. Именно ФСГ «контролирует» развитие сперматид в зрелые сперматозоиды на последнем этапе сперматогенеза.

Особенно важна роль ФСГ в пубертатный период, так как этот гормон инициирует сперматогенез [315]; хотя в дальнейшем лишь высокий уровень тестостерона способен поддерживать сперматогенез. Однако качественное и количественно нормальное образование спермы невозможно без комбинации ФСГ и тестостерона [290].

Секреция ФСГ обеспечивает размер яичек, поскольку этот гормон является основным стимулятором роста семявыносящих канальцев, на долю которых приходится почти 80% объема тестикул [50].

Уровни гонадотропинов имеют значимую отрицательную корреляцию со всеми важными параметрами спермы (количество сперматозоидов, подвижность и морфология, жизнеспособность), причем, уровень ФСГ наиболее информативен [143]. Для диагностики мужской фертильности важно как снижение уровня ФСГ, которое обычно связано с дисфункцией гипоталамуса и гипофиза, так и увеличение уровня ФСГ, которое свидетельствует о невосприимчивости к нему тканей яичка и сопровождается олигозооспермией и азооспермией [151].

Тем не менее, некоторые специалисты считают, что, несмотря на значимость в регуляции сперматогенеза, уровень ФСГ в плазме крови не может служить надежным показателем при оценке сперматогенеза [318].

Другие авторы признают, что определение уровня ФСГ необходимо при диагностике нарушения репродуктивной функции [326].

### **1.3.3 Лютеинизирующий гормон**

Лютеинизирующий гормон (ЛГ) – пептидный гормон, вырабатываемый передней долей гипофиза под влиянием рилизинг-гормонов гипоталамуса. С началом полового созревания гипофиз мужчины начинает вырабатывать ЛГ, воздействующий в первую очередь на клетки Лейдига [50]. Связывание ЛГ с мембранными рецепторами активирует аденилатциклазу в клетках Лейдига, ускоряет метаболизм холестерина. В результате этих процессов в тканях яичка увеличивается содержание субстратов стероидогенеза, синтез половых гормонов [268]. В клетках Лейдига под влиянием ФСГ стимулируются процессы образования и увеличения количества рецепторов к ЛГ, который служит основным модулятором синтеза тестостерона, и поддерживает его высокую внутритестикулярную концентрацию. Это обеспечивает воздействие на сперматогонию и первичные сперматоциты, регулирует их пролиферацию и созревание [182, 315].

Уровень ЛГ регулируется не только гонадолиберинами. По принципу обратной связи секреция ЛГ подавляется при повышении уровней тестостерона, дегидротестостерона и эстрадиола.

При гипогонадизме уровни ФСГ и ЛГ ниже нормы активных значений указывают на поражение гипоталамуса и гипофиза. При превышающем нормативные значения содержания ФСГ и ЛГ диагностируется первичное поражение половых желез [262].

### 1.3.4 Пролактин

Пролактин (ПРЛ) синтезируется передней долей гипофиза и является функциональным модулятором гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. Нормальный уровень ПРЛ необходим для поддержания продуктивной работы тестикул и развития вторичных половых признаков. Эти процессы протекают в условиях синергичного взаимодействия ПРЛ с тестостероном и ЛГ [50]. Рецепторы к ПРЛ обнаружены в эпителии семявыносящих протоков на всех стадиях его развития, на поверхности клеток Сертоли и клеток Лейдига, в сперматогониях и сперматоцитах, что свидетельствует о важной роли ПРЛ в сперматогенезе [268]. В клетках Лейдига ПРЛ необходим для поддержания их морфологии, увеличения числа рецепторов к ЛГ, стимулирования стероидогенеза и продукции андрогенов. В клетках Сертоли ПРЛ способствует увеличению количества рецепторов к ФСГ. Он влияет на обмен кальция в сперматозоидах, тем самым обеспечивая их транспортирование в составе эякулята из придатков, влияет на энергетический метаболизм в сперматозоидах, поддерживая их нормальную подвижность в извитых канальцах и усиливая ее после эякуляции, обеспечивает прикрепление сперматозоида к овоциту во время капацитации [81].

Несмотря на активное участие ПРЛ в регуляции обменных процессов в сперматозоидах и их подвижности, неясным остается влияние концентрации ПРЛ на количество и морфологию сперматозоидов [226]. В зарубежной и отечественной специальной литературе вопрос о состоянии репродуктивной системы в условиях гиперпролактинемии подробно почти не рассматривается, однако, некоторые немногочисленные исследования свидетельствуют, что гиперпролактинемия не играет существенной роли в возникновении бесплодия и необходимость определения уровня ПРЛ при диагностике нарушения репродуктивной функции мужчин остается сомнительной [212]. Изучение данной проблемы осложняется тем, что повышенный уровень ПРЛ зачастую сопровождается снижением секреции гонадотропинов и тестостерона (вместе с

тем у 20% мужчин, страдающих бессимптомной гиперпролактинемией, уровень тестостерона может оказаться в пределах нормы); кроме того, клинические проявления гиперпролактинемии у мужчин не столь ярко выражены как у женщин. У мужчин гиперпролактинемия может проявляться олигозооспермией, нарушением сперматогенеза, обусловленными цитологическими изменениями в тестикулах и приводящие к повреждению митохондрий зрелых сперматозоидов [60].

Гипопрولاктинемия встречается редко, проявляется, главным образом, в нарушении подвижности сперматозоидов [147].

### **1.3.5 Гормоны щитовидной железы**

Обычно функция щитовидной железы при диагностике мужского бесплодия не исследуется. Уровень тиреотропного гормона (ТТГ) как индикатора достаточности выработки тироксина и трийодтиронина, которые системно воздействуют на организм, в том числе и на его репродуктивную функцию, служит важным критерием оценки гормонального статуса [222]. Мнения специалистов при оценке роли гормонов щитовидной железы в развитии мужского бесплодия различны. Ряд авторов утверждают, что дисфункция щитовидной железы не сказывается на параметрах эякулята [302, 303]. Другие, напротив, полагают, что гормоны щитовидной железы существенно влияют на эмбриональное созревание клеток Сертоли, дифференцировку клеток Лейдига, стероидогенез в яичке после рождения, продукцию тестостерона и ЛГ посредством изменения функции гипофиза, а также на интенсивность связывания тестостерона с клеточными рецепторами сперматогенного эпителия [223].

На изменение репродуктивной функции могут воздействовать как гипотиреоз, так и гипертиреоз, причем отрицательно на качество спермы влияет, прежде всего, гипотиреоз [86]. Гипертиреоз может привести к замедлению развития клеток Лейдига, нарушению подвижности

сперматозоидов, снижению фертильности в результате замедления распада женских половых гормонов лишь на стадии тиреотоксикоза [190, 191].

Гипотиреоз вызывает гипергонадотропное состояние, при котором снижается содержание ЛГ, эстрадиола, общего тестостерона в сыворотке крови, тогда как уровень свободного тестостерона остается в пределах нормы. Это объясняется тем, что в печени образуется меньше глобулина, связывающего половые гормоны. Вне комплекса с белком половые гормоны быстро разрушаются, не успевая оказать биологическое действие, в том числе и на сперматогенез [205].

При первичном гипотиреозе может развиваться гиперпролактинемия, что обусловлено с действием гипоталамического тиретропин-рилизинг гормона (ТРГ), синтез которого в условиях дефицита гормонов щитовидной железы многократно возрастает на основе принципа отрицательной обратной связи. Важно и то, что ТРГ способен стимулировать секрецию не только ТТГ, но и пролактина [143].

При гипотиреозе наблюдаются снижение основного обмена, замедление кровотока, снижение потребления кислорода, поэтому нарушение сперматогенеза проявляется, прежде всего, в изменении морфологии сперматозоидов.

Следует также отметить, что гормоны щитовидной железы, являясь системными, регулируют уровень антиоксидантной защиты клеток, в том числе и репродуктивной системы пациента, страдающего бесплодием.

### **1.3.6 Эстрадиол**

У мужчин основным механизмом образования эстрадиола является не синтез в яичках, а конверсия посредством ароматизации андрогенов (тестостерон, андростендион). Ароматизация осуществляется, преимущественно, в жировой и мышечной тканях при участии фермента Р-450 ароматазы [50]. Более 98% эстрадиола циркулирует в сыворотке крови в



связанном с белками состоянии. Только небольшая его часть находится в свободной форме и является носителем гормональной активности. Яичко секретирует эстрадиол в пределах семенной вены, причем, его концентрация в тестикулярной ткани в 50 раз выше, чем в периферической крови [330]. Эстрадиол продуцируется не только тестикулярными соматическими (клетки Лейдига и клетки Сертоли), но и зародышевыми клетками [268]. В организме функции эстрогенов многообразны. В репродуктивной сфере мужчин основная роль эстрогенов заключается в регуляции уровня жидкости в выводящих протоках головки эпидидимиса [284]. Вместе с гормонами щитовидной железы эстрадиол участвует в метаболизме кальция, регулируя его нормальное содержание внутри клетки и предотвращая повреждение ДНК клеток, в том числе и у сперматозоидов [223].

Как при повышении, так и при снижении содержания эстрадиола у мужчин нарушается сперматогенез. Повышение уровня тестикулярного эстрогена ведет к супрессии гонадотропинов, а, следовательно, к гипогонадизму, что, в свою очередь, вызывает развитие олигоастенозооспермии, нарушение морфологии сперматозоидов [304, 282]. Повышенный уровень эстрогенов отмечается у тучных пациентов, так как избыток жировой ткани обуславливает активацию реакции ароматизации большого количества андрогенов [164, 263].

Повышенный уровень эстрогенов отмечается и после травмы яичек, так как усиливалась ФСГ стимулируемая реакция ароматизации андрогенов, приводящая к нарушению сперматогенеза [239, 87].

Несмотря на выявленные функции эстрадиола в мужском организме и его влияние на сперматогенез, некоторые специалисты по-прежнему считают, что оценка уровня эстрадиола при диагностике мужского бесплодия не информативна [160].

### **1.3.7 Прогестерон**

У мужчин прогестерон продуцируется корой надпочечников и тканью яичек [50] и выступает предшественником других гормонов. Из него синтезируются тестостерон, кортизол, нейростероиды. Кроме того, прогестерон снижает уровень конверсии тестостерона в дегидротестостерон, препятствуя повышению уровня эстрогенов, регулирует обмен жидкости в организме, нормализует функцию щитовидной железы [47]. Повышение уровня прогестерона в течение длительного времени приводит к атрофии яичек и, следовательно, к нарушению сперматогенеза и бесплодию. В качестве регулятора репродукции прогестерон в высоких концентрациях обнаружен в тестикулярной ткани, где он оказывает свое действие на клетки Сертоли [158]. Непосредственно на сперматогенез прогестерон влияет через усиление притока кальция в клетку [120]. Прогестерон – это физиологический стимулятор, повышающий активность фосфолипаз, которые, в свою очередь, вызывают капацитацию и акросомальную реакцию путем фосфорилирования тирозина белков сперматозоида [135]. Низкая экспрессия рецепторов к прогестерону на сперматозоидах также вызывает нарушение акросомальной реакции и ведет к бесплодию [189]. Тем не менее, ряд авторов придерживаются мнения, что значительных различий в уровнях сывороточного прогестерона между мужчинами с нормозооспермией и пациентами с нарушениями показателей спермограммы не обнаружено [261].

## **1.4 Влияние нарушения обменных процессов на фертильность мужчин**

В настоящее время наиболее изучено влияние на репродуктивную систему дислипидемии и сахарного диабета [263]. Увеличивается количество мужчин репродуктивного возраста с избыточным весом и ожирением; у большинства таких пациентов выявлены нарушения в спермограмме при

гиперлипидемии. Высокий уровень липидов оказывает прямое неблагоприятное влияние на тестикулярную функцию [248]. Избыточный вес приводит к изменению гормонального профиля, характеризующегося снижением уровня тестостерона и увеличением уровня эстрадиола [95, 216]. Уровень фосфолипидов и жирных кислот в эякуляте изменяется под влиянием серологических липидов. Увеличение уровня триглицеридов и снижение уровня тестостерона приводят к нарушению подвижности сперматозоидов и повышенной их деструкции, нарушению сперматогенеза [122, 202]. При избытке холестерина снижается подвижность сперматозоидов, увеличивается количество морфологических изменений (прикрепление головок не по оси сперматозоида, наличие крупных цитоплазматических капель на жгутиках) [197]. Изменены функциональные возможности мембран сперматозоидов – снижение реакции мембраны сперматозоидов на гипоосмотический тест, набухание мембран, нарушение их функций при капацитации [291, 285]. Нарушение капацитации обуславливается измененной мембранной текучестью, этот дефект мембраны сперматозоидов обуславливает их низкую оплодотворяющую способность [84]. Нарушение липидного обмена вызывает развитие оксидантного стресса посредством гиперпродукции активных форм кислорода и снижения антиоксидантной защиты [121], что приводит к преждевременной акросомальной реакции, астенозооспермии и нарушению жизнеспособности сперматозоидов [248].

Сахарный диабет представляет одно из распространенных заболеваний в современном обществе. Долгое время считалось, что сахарный диабет не оказывает влияния на репродуктивную систему [68].

Сахарный диабет обоих типов и метаболический синдром служат главной причиной серьезных микро- и макрососудистых нарушений, оказывающих влияние на организм в целом, в том числе и на репродуктивную систему [210]. Нарушение углеводного обмена, недостаток глюкозы и фруктозы в клетке приводит к снижению продукции АТФ, а гликозилирование мембраны, ее перекисное окисление вызывает нарушение целостности мембранных структур

сперматозоида [76, 264]. Эти два фактора существенно влияют на морфо-функциональные характеристики сперматозоида [181]. У бесплодных мужчин, страдающих диабетом, диагностируется снижение подвижности сперматозоидов, обусловленное повреждением митохондрий активными формами кислорода, снижение концентрации сперматозоидов и разнообразные нарушения их морфологии [69, 266].

### **1.5 Урогенитальные инфекции как причина нарушения репродуктивной функции**

Одной из причин снижения мужской фертильности являются урогенитальные инфекции. В урогенитальном тракте мужчин и женщин присутствует огромное количество микроорганизмов [44]. К патогенным микроорганизмам относятся *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium*, а *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum/ parvum* входят в большую группу условно-патогенных микроорганизмов, которые вызывают заболевание при определенных условиях (ослабление локального иммунитета). Имея мелкие размеры, они трудны для диагностики, но на современном этапе их выявление включено в протокол обследования пациента при бесплодии [172]. Длительно персистируя в урогенитальном тракте, они могут не вызывать никаких клинических проявлений, а вялотекущее воспаление имеет тенденцию к распространению и развитию не только уретрита но и простатита, эпидидимита, орхита [141, 267]. Хроническое воспаление урогенитального тракта приводит к нарушению его проходимости, а воспаление в предстательной железе и семенных пузырьках вызывает изменение физико-химических свойств их секрета, обуславливая снижение активности сперматозоидов [142, 199]. Поражая сперматогенный эпителий, эти микроорганизмы вызывают появление большого количества аномальных, патологически измененных форм сперматозоидов с нарушенной подвижностью [313]. Попадая в эякулят, данные возбудители могут нарушать подвижность

сперматозоидов посредством выработки активных форм кислорода, которые повреждают митохондрии, а также приводят к перекисному окислению липидов мембран. Вследствие этого изменяется текучесть мембран, снижается подвижность сперматозоидов [318]. Хламидии, микоплазмы и уреплазмы способны вызывать фрагментацию ДНК, повреждать хроматин и приводить к апоптозу сперматозоидов [269, 137]. Кроме того, взаимодействуя со многими компонентами иммунной системы, они могут индуцировать активацию макрофагов, выработку провоспалительных цитокинов и антиспермальных антител [35, 43].

Существует большая группа условно-патогенных микроорганизмов (энтерококки, энтеробактерии, стафилококки, стрептококки, гарднереллы и др.) которые могут и не вызывать клинических проявлений инфекционного процесса [44]. Бессимптомная бактериоспермия – скрытая инфекция половых путей мужчины - нередко становится причиной бесплодия. Как известно, к важнейшим факторам фертильности эякулята относится сохранение подвижности и жизнеспособности сперматозоидов, а одним из проявлений инфекции следует считать астенозооспермию, изменение качественных и количественных характеристик сперматозоидов [18].

Известно несколько механизмов, вызывающих повреждение сперматозоидов при бактериоспермии. Инфекция часто приводит к хроническому воспалительному процессу в половых железах, оказывая повреждающее действие на сперматогенный эпителий. Бактерии вызывают обеднение семенной жидкости фруктозой и цинком, что нарушает метаболизм в сперматозоидах [88]. Поддержание бактериями хронического воспаления уrogenитального тракта зачастую сопровождается увеличением количества нейтрофильных гранулоцитов, которые вырабатывают свободные радикалы и активные формы кислорода [119]. Активные формы кислорода в норме необходимы для сперматогенеза, так как способствуют уплотнению хроматина, мембранной модернизации, активации внутриклеточных проводящих путей при созревании сперматозоидов. Однако если антиоксидантная защита оказывается

недостаточной, развивается оксидантный стресс, который считают основным механизмом повреждения ультраструктур сперматозоида [259]. Избыток активных форм кислорода обуславливает фрагментацию ядерной ДНК сперматозоидов [232, 124] и оказывает выраженное повреждающее действие на митохондриальную ДНК, которая является наиболее уязвимой к действию активных форм кислорода [124, 194, 305]. Оксидантный стресс препятствует сперматогенезу, приводя к накоплению поколения сперматозоидов с плохо реконструированным хроматином [62, 200]. У этих «дефектных» сперматозоидов чаще обычного отмечается апоптоз, вызванный активацией окисления митохондрий свободными радикалами, приводящий к потере подвижности сперматозоидов. Изменения в структуре ДНК сперматозоидов вызывают нарушение эмбрионального развития, увеличение частоты самопроизвольных абортов и повышают риск передачи наследственных аномалий [53].

Таким образом, в основе патологического воздействия, оказываемого на репродуктивную систему хламидиями, микоплазмами, уреаплазмами и условно-патогенными микроорганизмами лежат воспалительные и аутоиммунные процессы, приводящие к нарушению сперматогенеза.

### **1.6 Роль генетических факторов в формировании инфертильности**

Примерно у 30% пациентов с хромосомными aberrациями среди клинических проявлений отмечаются аномалии половой системы, приводящие к нарушению репродуктивной функции [52, 11, 34]. Хромосомные болезни - это обширная группа патологических врожденных состояний. Они обусловлены численными отклонениями в составе хромосомного набора или нарушения структуры хромосом, фенотипически проявляющиеся различными нарушениями развития организма. Известно, что около 5-15% мужчин с бесплодием и нарушением сперматогенеза имеют хромосомные нарушения,

при этом аномалии половых хромосом составляют 75%, аномалии аутосом - 25% [12, 29, 31, 30, 54]. К наиболее распространенным аномалиям половых хромосом относятся структурные нарушения (структурные перестройки Y-хромосомы, такие как транслокации, делеции, дупликации, инверсии), а также численные нарушения кариотипа, такие как синдром Кляйнфельтера (кариотип 47XXY), дисомия (кариотип 47 XYY) [15] или синдром Y-полисомии [258].

На Y-хромосоме локализовано несколько десятков генов, кодирующих дифференцировку пола, формирование яичек и процесс сперматогенеза. Сперматогенез - сложный биологический процесс, контролируемый «включением» и «выключением» определенных генов, которые инициируют пролиферацию сперматогоний, мейоз и морфологическую дифференцировку сперматид в зрелые сперматозоиды [332]. В определенных участках Y-хромосомы, которые принято называть AZF-участки (от англ. azoospermic factor) расположены основные гены, контролирующие сперматогенез [97]. Мутации генов на любом из этих участков приведут к широкому спектру нарушений сперматогенеза от гипосперматогенеза до азооспермии [93, 288, 256].

Впервые зависимость между нарушением сперматогенеза и генетической причиной, лежащей в его основе, продемонстрировали L. Tierpolo и O. Zuffardi в 1976 году [300]. Тогда же высказывалось предположение о существовании фактора азооспермии, который кодируется геном или группой генов, локализованных в части Yq. Но только в 1980 г. были определены участки, обуславливающие наличие или отсутствие сперматогенеза [307]. Кроме немногих описанных случаев наследования Y-делеций, большинство делеций возникают самостоятельно. Наиболее вероятным представляется их тестикулярное происхождение, хотя они могут возникать и в оплодотворенных яйцеклетках, эмбрионах на разных стадиях развития, препятствуя образованию сперматогоний у плода и, соответственно, нарушая сперматогенез у мужчины [114].

Высокий уровень хромосомных аномалий среди бесплодных мужчин, которые могут приводить к нарушению компактизации хроматина сперматозоидов, предполагает выполнение при обследовании и кариотипировании с анализом AZF-участков Y-хромосомы [188].

Синдром Кляйнфельтера описан в 1942 г. Частота встречаемости варьируется в пределах от 0,5 до 2 на 1000 новорожденных мальчиков (полные и мозаичные формы). При синдроме Кляйнфельтера возникновение полисомии X в большинстве случаев обусловлено нерасхождением хромосом в процессе гаметогенеза у здоровых родителей. Наличие Y-хромосомы определяет мужской пол больных, и мальчики с аномальным набором хромосом до периода полового созревания почти не отличаются от лиц с нормальным мужским кариотипом, иногда диагностируют гипоплазию яичек. В период полового созревания начинает клинически проявляться генетический дисбаланс, создаваемый дополнительной X-хромосомой. У таких мужчин недоразвиты яички, они уменьшены в размерах. При гистологическом исследовании обнаруживается сохранение нормального количества клеток Лейдига и Сертоли, дегенерация герминативного эпителия и гиалиноз семенных канальцев, развивается олигоспермия и азооспермия [45]. При мозаичной форме синдрома описаны нормальные фертильные мужчины, имеющие повышенную частоту специфических и неспецифических хромосомных aberrаций в сперматозоидах [23].

Чем больше количество X хромосом в кариотипе, тем сильнее выражена задержка психомоторного развития и шире спектр врожденных пороков и микроаномалий, в том числе и сперматозоидов.

Синдром Y-полисомии характеризуется наличием дополнительной Y-хромосомы в хромосомном наборе. Частота встречаемости синдрома примерно у одного из 840 мужчин [12] и у одного из 10 среди лиц с ростом более 2 м [4]. Избыточность роста отмечается уже в детском возрасте и, вероятно, обусловлена наличием в Y-хромосоме одного из генов, детерминирующих рост. Значительная часть больных имеет нарушения полового развития в виде



гипергонадотропного гипогонадизма разной степени выраженности, крипторхизма, нарушений сперматогенеза и потенции, приводящих к бесплодию [52]. Тем не менее, у многих пациентов половая функция нормальна, фертильность сохранена, при этом риск появления потомства с аномальными наборами хромосом составляет 50% [26, 32].

### **1.7 Варикоцеле как причина бесплодия**

Варикоцеле – это варикозное расширение сосудов гроздевидного сплетения семенного канатика [184]. Данное заболевание распространено среди 10-15% мужской популяции и обычно обусловлено врожденными анатомическими предпосылками, при которых отток крови от левого яичка в почечную вену затруднен в вертикальном положении [309]. По данным Американского общества репродуктивной медицины, варикоцеле является самой частой причиной мужского бесплодия, хотя его роль в этиологии мужского бесплодия признается не всеми исследователями. Один из возможных механизмов подавления сперматогенеза при варикоцеле – повышение местной температуры в яичках, что создает неблагоприятные условия для созревания сперматозоидов [148]. Кроме того, варикоцеле нередко сопровождается инфекциями придаточных половых желез, придатка яичка, иммунологическими нарушениями [25].

Этиология мужского бесплодия при варикоцеле является многофакторной, но в прогрессировании болезни гормональный дисбаланс и оксидантный стресс играют ключевую роль [169]. Отмечается ухудшение качественных показателей спермы по сравнению с результатами спермограмм мужчин с нормальной репродуктивной функцией [253]. При варикоцеле чаще всего диагностируют олиго- и астенозооспермию [149], снижение плотности спермы [66]. У пациентов с варикоцеле при обследовании определяют высокие уровни активных форм кислорода, и низкие показатели антиоксидантной защиты [169], что обуславливает обратную корреляцию между семенным и

плазменным уровнем оксида азота (II) [229]. У большинства обследуемых мужчин с варикоцеле зарегистрировано повышение уровня антиспермальных антител (в основном это серологические и семенные плазменные уровни Jg A и JgM). Это предполагает, что при варикозном расширении вен семенного канатика играет роль и иммунологическая форма бесплодия [149].

Данные, полученные при изучении гормонального профиля пациентов с варикоцеле, не позволили выявить закономерностей в изменении уровней гормонов. Некоторые исследователи считают, что при варикоцеле происходит изменение уровней ФСГ, ЛГ, ПРЛ (увеличение), тестостерона и эстрадиола (снижение) [230, 132]. Другие полагают, что при увеличении уровня ФСГ показатели ЛГ и тестостерона остаются неизменными [229]. По наблюдениям отдельных специалистов, различий в гормональном статусе у мужчин с варикоцеле и без него не зарегистрировано [56, 146, 213].

При варикоцеле установить ведущую причину нарушения фертильности трудно. Существует гипотеза, основанная на выявленных взаимосвязях между варикоцеле и оксидантным стрессом, гормональным дисбалансом, дисфункцией сперматозоидов: у пациентов с варикоцеле имеется дефект мембран сперматозоидов, что и обуславливает снижение реакции на капацитацию, нарушение подвижности сперматозоидов [153, 302].

### **1.8 Роль экологических и социальных факторов в развитии бесплодия**

На мужскую репродуктивную систему неблагоприятно влияют и такие факторы, как экология, вредные привычки, наркомания [155]. Целостность отцовского генома очень важна, поскольку сперматозоиды переносят генетический материал. Экологические факторы (пестициды, экзогенные эстрогены, тяжелые металлы, физические явления) вызывая структурные и генетические нарушения, могут повредить целостность хроматина сперматозоидов [105]. В основе воздействия этих веществ на человеческие

сперматозоиды лежит оксидантный стресс, развитию которого способствует большое количество субстратов для свободнорадикального окисления и нехватка эндоплазматического места для локализации ферментов антиоксидантной защиты [286, 311]. Электромагнитная радиация усиливает окислительное повреждение митохондрий и нарушает подвижность и жизнеспособность сперматозоидов, приводит к фрагментации ДНК [106]. Кроме того, отмечено ухудшение морфологии сперматозоидов, увеличение уровня тестостерона и снижение уровня ЛГ [154].

Несмотря на многочисленные антитабачные кампании, курение по-прежнему широко распространено среди молодых взрослых мужчин репродуктивного возраста, что подтверждается статистическими выборками, проведенными в разных странах мира [301]. Известно, что качество спермы ухудшается от курения сигарет [233], но не установлено безопасное количество выкуриваемых сигарет, которое не влияет на сперматозоиды [112]. Курение негативно влияет на внутриклеточные антиоксидантные ферменты, снижая уровень окислительной защиты сперматозоидов: уменьшается количество протаминов, ответственных за уплотнение хроматина [140, 157]. Поэтому отмечается повреждение ДНК сперматозоидов у бесплодных курящих мужчин, проявляющееся увеличением количества круглоголовых сперматозоидов [118]. У курящих выявляется астеноозоспермия, обусловленная повреждением митохондрий активными формами кислорода при сниженной антиоксидантной защите, уменьшение объема спермы и количества сперматозоидов [103]. У пациентов, имеющих длительный стаж курения, в большинстве случаев диагностируется тератозоспермия [294, 241]. Кроме того, у таких пациентов отмечается снижение уровней ПРЛ, ФСГ, ЛГ и увеличение уровня эстрадиола. Это предполагает, что изменения подвижности и морфологии сперматозоидов могут быть также вызваны изменением гормонального фона курящих мужчин [242].

Алкоголь оказывает негативное воздействие на всех уровнях мужской репродуктивной системы, однако дозозависимые эффекты алкоголя на

человеческие сперматозоиды не установлены [139]. Алкоголь приводит к тестикулярной атрофии, воздействуя на семенные каналцы, которые заполнены сперматидами. Об этом свидетельствует тот факт, что у мужчин, злоупотребляющих алкоголем, чаще регистрируются дефекты морфологии сперматозоидов и уменьшение их количества, чем нарушение подвижности сперматозоидов [156, 103]. Системно воздействуя на организм, алкоголь нарушает регуляторную функцию «гипофиз-гипоталамус-гонадной оси», приводя к нарушению синтеза ЛГ и ФСГ, что в свою очередь вызывает деградацию клеток Сертоли и повреждение некоторых белков, необходимых для сперматогенеза [192]. Алкоголь оказывает токсическое воздействие на клетки Лейдига, снижает в крови уровень тестостерона, посредством уменьшения его продукции и увеличения метаболического клиренса. Таким образом, злоупотребление алкоголем вызывает нарушение гормонального баланса в организме (снижение уровней тестостерона, ЛГ, ФСГ в сыворотке крови), препятствует нормальному морфологическому созреванию сперматозоидов, замедляет продукцию спермы тестикулярными зародышевыми клетками [235].

Ряд авторов придерживаются мнения, что курение и употребление алкоголя не оказывает влияние на морфо-функциональные и количественные характеристики сперматозоидов [104].

Вопрос о влиянии наркотиков на репродуктивную функцию мужчин в литературе рассмотрен недостаточно. Установлено, что длительное употребление героина, морфина и гашиша приводит к астенозооспермии, олигозооспермии и морфологической патологии сперматозоидов, таким как круглые головки, цитоплазматическая капля, обилие незрелых форм сперматозоидов в эякуляте [292].

Анализ специальной литературы показал, что воздействие различных факторов на мужскую репродуктивную систему обычно исследуется изолированно друг от друга. Остается неосвещенным вопрос совместного влияния факторов, приводящих к бесплодию, и взаимосвязи механизмов их

повреждающего действия в патогенезе астенозооспермии. Поэтому, по-прежнему препятствием для быстрого и точного выявления причины нарушения репродуктивной функции является отсутствие стандартизированных специальных программ обследования, которые бы включали в себя набор необходимых диагностических исследований.

## Глава 2

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для выполнения поставленных задач послужили результаты обследования пациентов страдавших бесплодием и находившихся под наблюдением в МБУ ДГБ № 10 - Городской перинатальный центр. Все исследования проведены в два этапа. Первый этап включал в себя ретроспективный анализ медицинской документации (145 амбулаторных карт и 3459 спермограмм) пациентов, обследованных по поводу бесплодия за период с 2009 по 2011 год. Анализ спермограмм проведен с целью определения наиболее часто выявляемых патологических изменений эякулята.

На втором этапе проведено проспективное сравнительное исследование, в которое было включено 130 человек. На основании результатов спермограммы и электронно-микроскопического исследования сперматозоидов были сформированы две группы.

Группу сравнения составили пациенты, у которых по результатам спермограммы была диагностирована нормозооспермия, а по результатам ЭМИС - нормальная ультраструктура сперматозоидов. Также обязательным условием было наличие хотя бы одного совместного ребенка у пациента в существующем браке. Согласно указанным данным в группу вошло 30 человек в возрасте от 25 до 42 лет (средний возраст  $32,77 \pm 4,36$ ,  $p < 0,8$ ).

В основную группу включены 100 человек, у которых по результатам спермограммы выявлена астенозооспермия, в некоторых случаях сочетающаяся с олигозооспермией. По результатам ЭМИС обнаружены ультраструктурные изменения сперматозоидов. Возраст пациентов этой группы был в пределах от 22 до 48 лет (средний возраст  $32,41 \pm 5,48$ ,  $p < 0,8$ ).

Все пациенты в этой группе страдали бесплодием от 1 года до 15 лет. При подборе исследуемых групп учитывались критерии включения и исключения.

*Критерии включения:* 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.

Всем пациентам на базе МАУ «Клинико-диагностический центр» выполнены следующие виды исследований: спермограмма, ЭМИС, иммунологические (АСАТ, уровень цитокинов параллельно в сыворотке крови и эякуляте), общеклинические (общий анализ крови и мочи, отделяемого уретры, секрет предстательной железы), гормональные, биохимические, определение наличия инфекционного процесса в урогенитальном тракте, наличие ВИЧ-инфекции и генетические (оценка кариотипа). Выбранные методы обследования доступны, достоверно отражают уровень определяемого показателя. ЭМИС позволяет исследовать ультраструктуру сперматозоидов.

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

## **2.1 Спермограмма**

Для исследования забраны эякуляты, полученные механическим методом после 3-х дневного воздержания у 130 мужчин, обследовавшихся по поводу бесплодия. Набор материала проводился слепым методом и одновременно направлялся на рутинное исследование (спермограмма) и на ЭМИС.

Спермограмма выполнена по общепринятым методикам и ее параметры оценены в соответствии с критериями ВОЗ 2010 года [319].

При оценке спермограммы исследованы следующие группы показателей: количественные (объем эякулята, концентрация сперматозоидов, общее

количество сперматозоидов), качественные (цвет, кислотность - рН, вязкость), микроскопические (оценка подвижности и жизнеспособности сперматозоидов, наличие агглютинации и агрегации, оценка других клеточных элементов, изучение морфологии сперматозоидов, клеток сперматогенеза). Все микроскопические исследования эякулята выполнялись с помощью микроскопа «OLYMPUS».

По результатам спермограммы пациентов относили либо к группе сравнения (нормозооспермия), либо к основной группе (астенозооспермия).

## **2.2 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 возрастающей концентрации и полимеризовали в аралдитовой смоле при температуре 60<sup>0</sup>С [7, 316]. Ультратонкие срезы получали на ультратоме Leica EM UC6, контрастировали цитратом свинца и исследовали в электронном микроскопе Morgagni 268 при ускоряющем напряжении 70 киловольт. 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 2200 до 71000.

## **2.3 Диагностика урогенитальных инфекций**

### **2.3.1 Бактериологическое исследование эякулята**

Эякулят отбирали в стерильный контейнер и осуществляли посев на 5%-кровяно-дрожжевой агар, шоколадный агар, Сабуро агар [38]. Оценка результатов исследования включала количественный учет (титр) - определение числа колониеобразующих единиц в 1 мл (КОЕ/мл), видовую принадлежность всех значимых морфотипов.

### **2.3.2 Диагностика урогенитальных инфекций методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)**

Для диагностики урогенитальных инфекций методом ПЦР у пациентов брали соскоб с задней стенки уретры. Индикацию и идентификацию *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma 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 (FER). Все исследования по генодиагностике возбудителей заболеваний урогенитального тракта выполняли на автоматическом люминесцентном анализаторе «АЛА-1/4» (BioSan, Латвия) с использованием диагностических наборов фирмы «АмплиСенс» (Москва).

## **2.4 Иммунологические исследования**

Включали в себя выявление наличия АСАТ и уровня цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10 в сыворотке периферической крови и семенной плазме.

### **2.4.1 Антиспермальные антитела (АСАТ)**

Определение антиспермальных антител в сыворотке крови проводили методом количественного ИФА на диагностических наборах фирмы «Bioserv». В исследовании определялась концентрация 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 в соответствии с рекомендациями ВОЗ с выполнением MAR-теста, позволяющего выявить антитела классов IgG и IgA, прикрепленные к поверхности сперматозоидов. Данное исследование выполнено с использованием диагностических наборов Bioscreen, фирмы «Bioserv». Был проведен прямой MarScreen-тест, в котором живые подвижные сперматозоиды смешиваются с суспензией сорбированных IgG или IgA частиц на предметном стекле с последующим подсчетом количества сперматозоидов, связавших частицы на 100 сперматозоидов. Положительным считали тест, в котором более 50% сперматозоидов несут на себе прикрепленные частицы. Оценка результатов теста проведена на микроскопе «OLYMPUS» в фазовом контрасте, при увеличении 10x40.

Кроме того, с помощью метода латексной агглютинации определяли антитела в семенной жидкости. Данное исследование также выполнено на диагностических наборах фирмы «Bioserv». В исследовании семенная плазма, полученная путем центрифугирования эякулята, разведенная буфером для разведения образцов смешивалась 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 считали тест на присутствие антиспермальных антител, если агглютинация присутствовала при разведении образца начиная с 1: 200. Проводилась визуальная оценка теста.

#### **2.4.2 Цитокины**

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

### **2.5 Общеклинические исследования**

Общеклинические исследования включали в себя общий анализ крови, общий анализ мочи, анализ отделяемого уретры и секрета предстательной железы и выполнены с целью исключения острых или обострения хронических воспалительных процессов.

#### **2.5.1 Общий анализ крови**

Гематологические исследования проводились на гематологической системе «ADVIA 120» фирмы «Bayer» (Австрия) с использованием диагностических наборов фирмы «Siemens». В каждом случае было проанализировано 25 параметров (лейкоциты, лейкоцитарная формула, атипичные лимфоциты, гемоглобин, гематокрит, эритроциты, средний объем эритроцита, среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, средняя концентрация гемоглобина в одном эритроците, распределение эритроцитов по объему, тромбоциты, средний объем тромбоцита, тромбоциты, ретикулоциты, СОЭ).

### **2.5.2 Общий анализ мочи**

В порции утренней мочи были исследованы белок, эритроциты, лейкоциты, нитриты, глюкоза, кетоны, рН, удельный вес, билирубин и уробилиноген с помощью тест-полосок «Siemens Multistix 10 SG» на анализаторе мочи «Clinitek 500 Bayer». Морфологическое исследование осадка мочи проводилось микроскопией нативного препарата осадка мочи на микроскопе «OLYMPUS».

### **2.5.3 Микроскопическое исследование отделяемого уретры**

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*.

### **2.5.4 Исследование секрета предстательной железы**

Секрет предстательной железы помещали на предметное стекло и, не допуская его высыхания, накрывали покровным стеклом. Нативный препарат исследовали на микроскопе «OLYMPUS» для исключения воспалительного процесса в предстательной железе.

## **2.6 Гормональные исследования**

Гормональные исследования включали измерение в сыворотке крови концентрации тиреотропного гормона (ТТГ), гормонов гипофиза – фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), пролактина (ПРЛ), репродуктивных гормонов – прогестерона и эстрадиола, андрогенов – тестостерона и свободного тестостерона. Гормональные

исследования проведены на автоматическом хемилюминесцентном анализаторе «ADVIA Centaur XP» фирмы «Siemens» на диагностических наборах фирмы «Siemens».

## **2.7 Биохимические исследования**

В сыворотке венозной крови исследованы показатели белкового обмена (общий белок), углеводного обмена (глюкоза), липидного обмена (холестерин, липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), триглицериды). Биохимические исследования проведены на автоматическом биохимическом анализаторе «Vitros 350» (слайдовая технология) фирмы «OrthoClinical Diagnostics» (США) с использованием диагностических наборов этой же фирмы.

## **2.8 Цитогенетическое обследование**

В качестве материала для получения и анализа хромосомного материала использовали цельную периферическую кровь, взятую путем венопункции в стерильную пробирку с гепарином (из расчета 50-100 ед. гепарина на 1 мл крови). Метод цитогенетического исследования включал в себя несколько этапов [28]:

- 1 Постановка культуры лимфоцитов.
- 2 Обработка культуры лимфоцитов:
  - Колхинизация,
  - Гипотонизация,
  - Фиксация,
  - Приготовление хромосомных препаратов
- 3 Окраска препаратов.
- 4 Анализ кариотипа.

Постановку культуры лимфоцитов осуществляли в специальном боксовом помещении.

Анализ хромосомных препаратов выполнен 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 проводили с вариантами нормального кариотипа, приведенными в атласе «Хромосомы человека» [19].

При проведении цитогенетического исследования необходимо проанализировать не менее 10 – 15 клеток (метафаз). Всегда следует иметь в виду явление мозаицизма, встречающееся 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. Схема проведения анализа дополнительного количества клеток представлена в таблице 1 [28].

Таблица 1 – 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

Обозначение кариотипа проводилось в соответствии с Парижской номенклатурой хромосом 1985г. [28].

## 2.9 Диагностика ВИЧ

Для исследования сыворотки крови 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» (фотометр для микропланшет – модель 680, устройство для промывки микропланшет – PW-40), инкубацию микропланшет проводили в шейкер-термостатах германской фирмы «Heidolph» (incubator1000/titramax1000). 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».

## 2.10 Диагностика сифилиса

Для серологического обследования на сифилис был использован следующий алгоритм обследования:

- для первичного скрининга использовали ИФА на суммарные антитела и реакцию микропреципитации (РМП). При получении отрицательного результата сыворотку далее не исследовали;

- при получении положительного результата в суммарном ИФА или РМП, сыворотку исследовали в ИФА-IgM и ИФА-IgG (с определением коэффициента позитивности и титра специфических антител), реакция прямой геаагглютинации (РПГА) (для подтверждения специфичности ИФА при диагностике скрытых форм сифилиса), РМП (в количественном варианте – для контроля эффективности лечения).

При проведении ИФА и РПГА 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» (набор 1) для определения ассоциированных с сифилисом реактивных антител производства НПО «Диагностические системы».

Исследования проводили с помощью иммуноферментного оборудования фирмы «BioRad» и шейкер-термостата фирмы «Heidolph» (Германия).

### **Статистический анализ**

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  $\chi^2$ .



## Глава 3

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИЧИН НАРУШЕНИЯ ПОДВИЖНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ

Проведенный анализ спермограмм, выполненных за три года в МАУ «Клинико - диагностический центр» свидетельствует о том, что наиболее часто диагностируется нарушение подвижности сперматозоидов – астенозооспермия (таблица 2, рисунок 1).

Таблица 2 – Типы спермограмм, исследованных за период 2009 – 2011 гг.

Варианты заключений	2009	2010	2011
Нормозооспермия	222 (20,7%)	186 (16,8%)	273 (21,2%)
Астенозооспермия	679 (63,8%)	748 (67,5%)	784 (61%)
Олигозооспермия	75 (7,1%)	81 (7,3%)	117 (9,1%)
Тератозооспермия	62 (5,8%)	58 (5,2%)	73 (5,6%)
Некрозооспермия	6 (0,6%)	7 (0,63%)	9 (0,7%)
Азооспермия	20 (1,9%)	28 (2,53%)	31 (2,4%)
Общее количество спермограмм	1064 (100%)	1108 (100%)	1287 (100%)

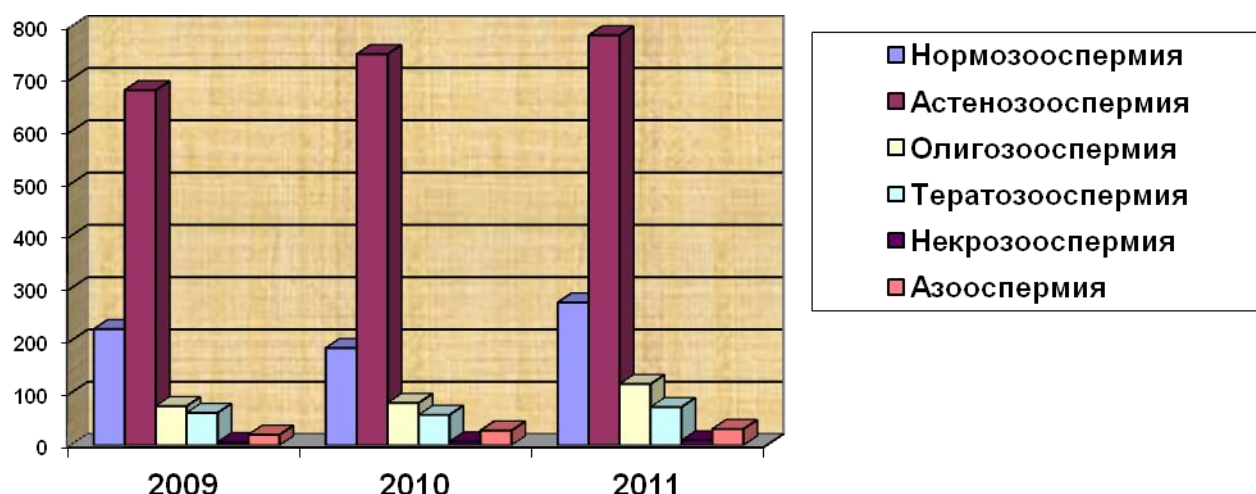


Рисунок 1 - Типы спермограмм, исследованных за период 2009 – 2011 гг.

Из таблицы и диаграммы видно, что нарушение подвижности сперматозоидов не только занимает лидирующее положение среди патологических состояний эякулята, но и существенно превышает количество случаев с нормозооспермией.

### 3.1 Спермограмма

В группе сравнения (30 человек) качественные и количественные показатели, а также морфология сперматозоидов были в пределах нормы.

У 27 человек (90%) категория подвижности «А» (быстрое поступательное движение) составляла 20-30%, на категорию «В» (медленное поступательное движение) приходилось 40-50%. Категории «С» (все виды непоступательного движения) и «D» (неподвижные сперматозоиды) составляли 5-10-15%. Лишь в одном случае (3%) отмечалось увеличение категории «D» до 50%. В двух случаях (6%) выявлено существенное снижение категории «А» до 5-10%, но нормальные показатели подвижности достигались за счет категории «В». При микроскопии нативного препарата у 12 человек (40%) была выявлена агрегация сперматозоидов. Агрегация сперматозоидов диагностирована у шести человек (20%).

В основную группу вошли 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 (олигозооспермия). Изменения рН выявлены в 12 случаях (12%). Из них сдвиг рН в кислую сторону обнаружен в двух случаях (2%), а в щелочную – в 10 случаях (10%). Нарушение подвижности сперматозоидов преимущественно проявлялось отсутствием категории подвижности «А», либо она составляла не более 5%. Категория «В» составляла 15-20-25% и остальные сперматозоиды распределялись между категориями «С» и «D», нередко с преобладанием категории «D», т.е. полностью неподвижные сперматозоиды, при этом с подтвержденной

жизнеспособностью. Агглютинация сперматозоидов в основной группе выявлена у 60 человек (60%). Агрегация сперматозоидов обнаружена у 22 человек (22%). Слизь в эякуляте обнаружена у 40 человек (40%). Сведения о результатах спермограмм представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Результаты 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 - олигозооспермия	30 (100%) 0	79 (79%) 21 (21%)
3. Общее количество сперматозоидов (млн) - в пределах нормы	30 (100%)	100 (100%)
4. Цвет	в норме	в норме
5. pH - в норме - кислая - щелочная	30 (100%) 0 0	88 (88%) 2 (2%)(pH 7) 10 (10%)(pH 9)
6. Вязкость (см)	в норме	в норме
7. Агглютинация - отсутствует - присутствует	18 (60%) 12 (40%)	40 (40%) 60 (60%)
8. Агрегация - отсутствует - присутствует	24 (80%) 6 (20%)	78 (78%) 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 спермограмме из показателей, которые могут повлиять на подвижность сперматозоидов, оценивали агглютинацию и наличие слизи. В группе сравнения выявлена слабо выраженная агглютинация головками сперматозоидов. В основной группе агглютинация выраженная или резко выраженная, преимущественно смешанного типа. Кроме того, у пациентов основной группы в 40 случаях (40%) в эякуляте выявлена слизь, механически препятствующая движению сперматозоидов.

Наличие агглютинации в группе сравнения не повлияло на подвижность сперматозоидов, а в основной группе привело к астенозооспермии.

### **3.2 Результаты электронно-микроскопического исследования сперматозоидов.**

На ультраструктурном уровне оценивались не только структуры, ответственные за подвижность сперматозоидов. В ходе работы, помимо детального изучения жгутиков, исследовано строение хроматина, акросомы и шеек сперматозоидов.

При ЭМИС в 30 случаях (100%) у пациентов группы сравнения выявлено преобладание сперматозоидов, имеющих зрелый, гиалиноподобный хроматин головок и четкие ровные акросомы, занимающие большую площадь головок сперматозоидов (рисунок 2).

В шейках сперматозоидов хорошо просматривались базальные пластинки, сегментированные столбики, центриоли, состоящие из 9 триплетов (рисунок 3). В структуре аксонемы жгутика на поперечных срезах видны 1 центральная и 9 периферических пар дуплетов, радиальные спицы, денеиновые ручки, 9 наружных плотных фибрилл (рисунок 4).

Митохондрии, расположенные в среднем отделе жгутика вокруг аксонемы, имели четкие 2-контурные мембраны и кристы (рисунок 5).

Фиброзный слой основного отдела жгутика был сформирован упорядоченно расположенными фиброзными волокнами (рисунок 6).

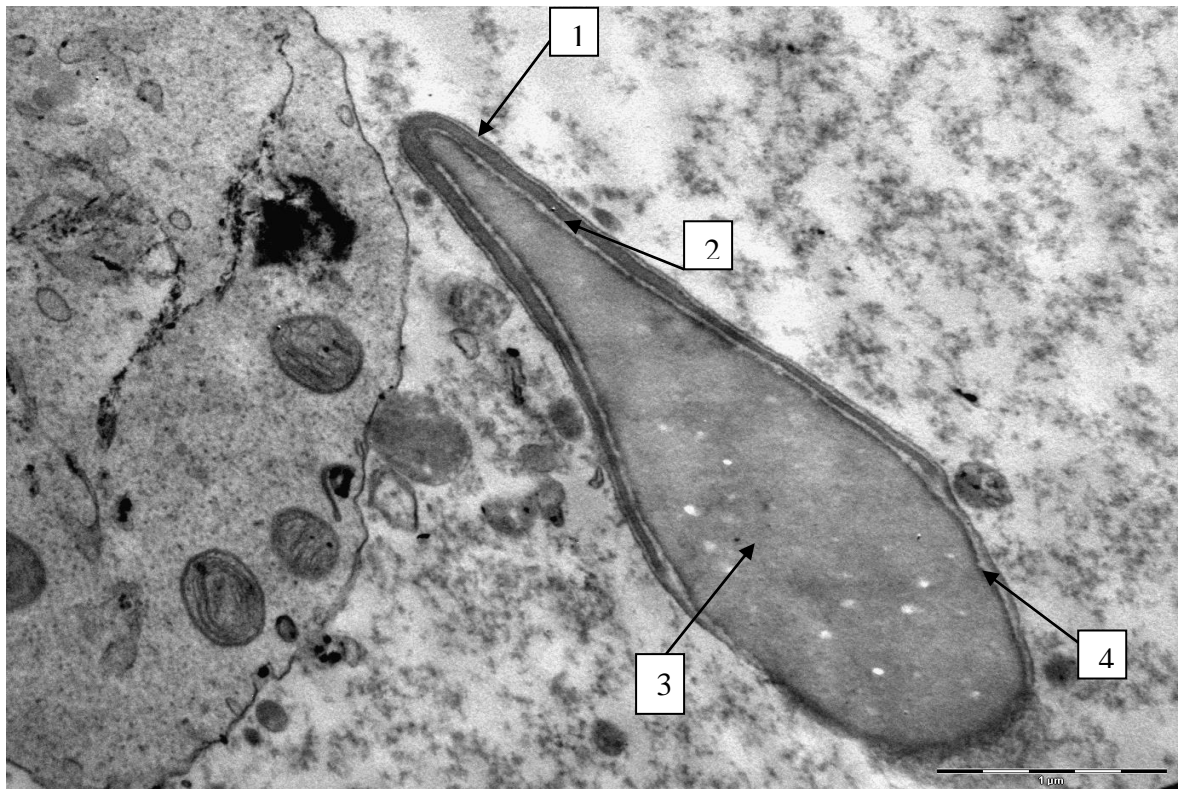


Рисунок 2 - Ультраструктура головки сперматозоида в норме  
 Примечание: 1 - акросома; 2 - постакросомальная пластинка; 3 – гомогенный гиалиноподобный хроматин; 4 – ядерная мембрана. x 18 000

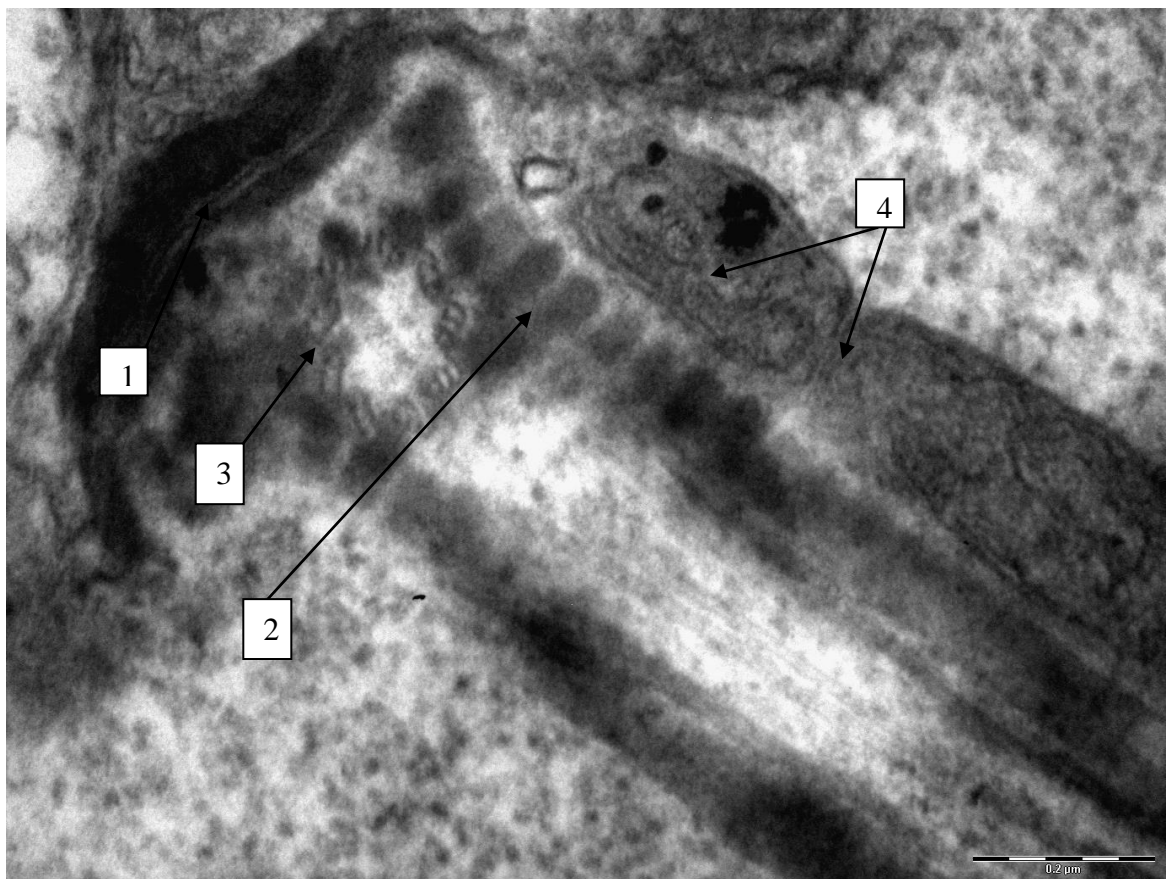


Рисунок 3 - Ультраструктура шейки сперматозоида  
 Примечание: 1 - базальная пластинка; 2 - сегментированные столбики; 3 - центриоль, состоящая из 9 триплетов; 4 - митохондрии. x 71 000

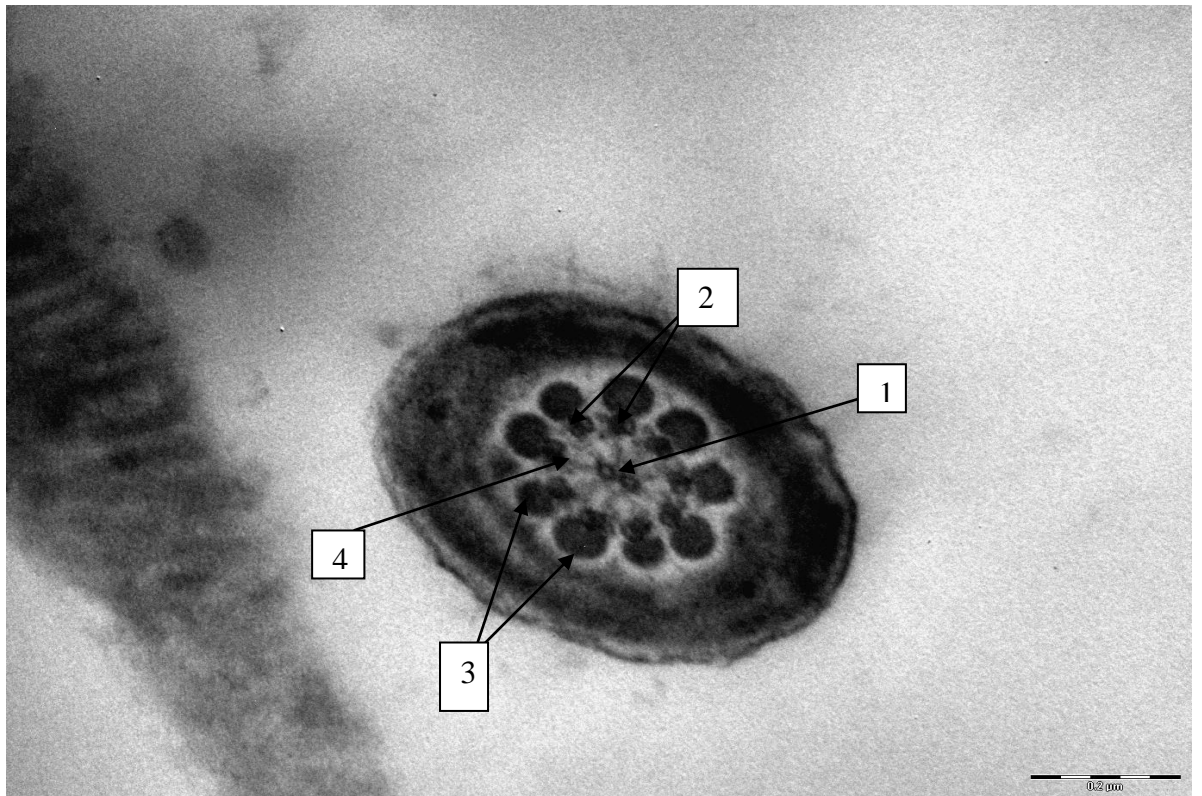


Рисунок 4 - Поперечный срез жгутика на границе среднего и основного отдела  
*Примечание:* 1 – центральная пара дуплетов; 2 - 9 периферических пар дуплетов; 3 - дополнительные плотные фибриллы; 4 - радиальные спицы. x 56 000

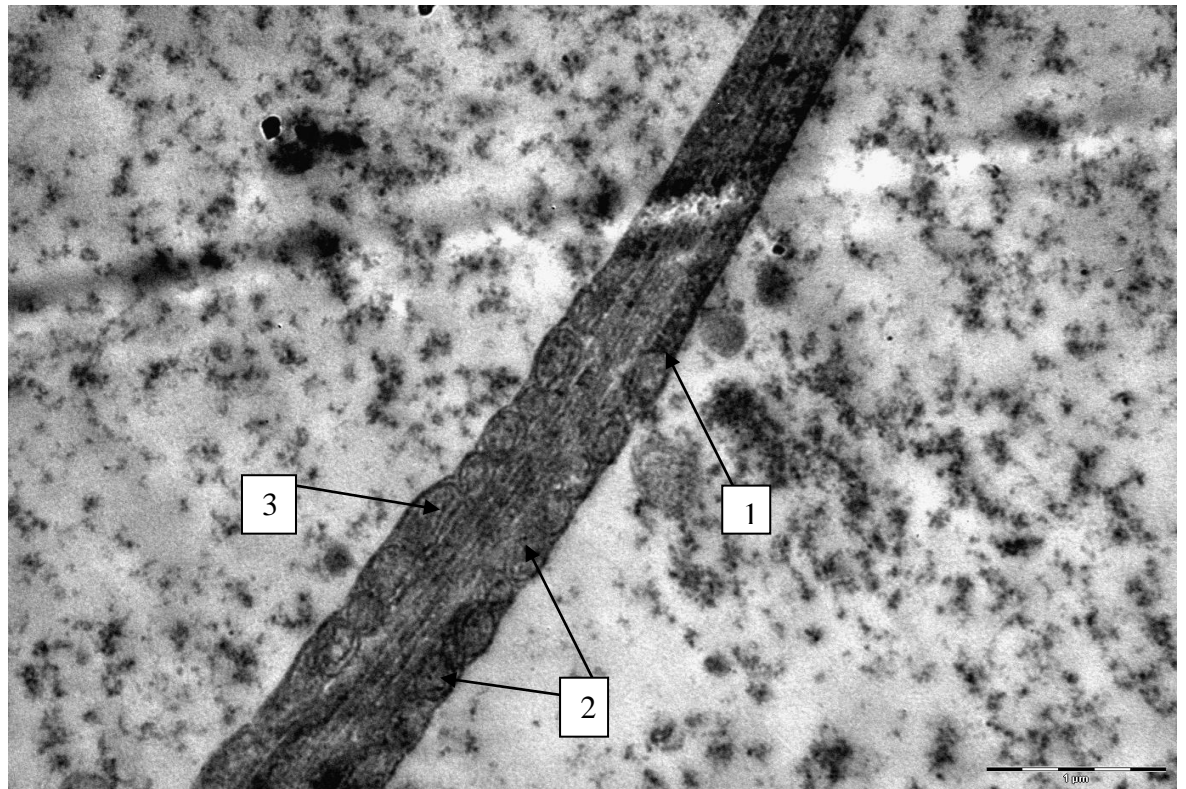


Рисунок 5 - Фрагмент жгутика сперматозоида  
*Примечание:* 1- граница между средним и основнымотделами; 2 – спиральная упаковка митохондрий вокруг аксонемы; 3 – кристы в митохондриях. x 14 000

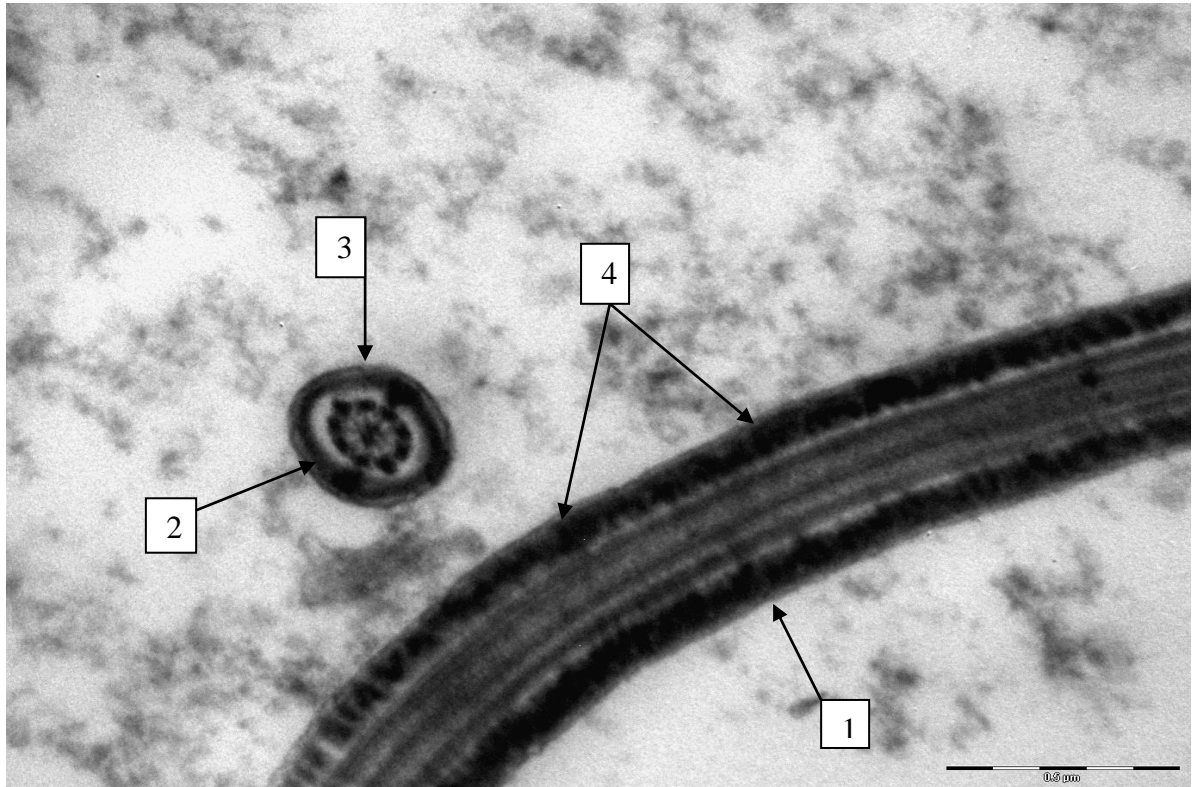


Рисунок 6 - Основной отдел жгутика сперматозоида

*Примечание:* 1- продольный срез; 2 – поперечный срез; 3 - аксонема, окруженная волокнистым влагалищем; 4 - фиброзная оболочка. x 36 000

В 11 случаях (37%), наряду с преобладанием сперматозоидов с нормальной ультраструктурой, выявлены единичные сперматозоиды с незначительным набуханием отдельных митохондрий и нечеткостью их крист, но расположение таких митохондрий оставалось правильным (рисунок 7).

В одном случае (3%) обнаружены сперматозоиды с гранулярным хроматином (рисунок 8). У трех человек (9%) из группы сравнения с измененными категориями подвижности в спермограмме при ЭМИС выявлены сперматозоиды с гиперплазированными ядерными мембранами, которые были заключены в цитоплазматическую каплю (рисунок 9). Следует отметить, у всех пациентов этой группы основное количество сперматозоидов представлено клетками с типичной ультраструктурой (рисунок 10).

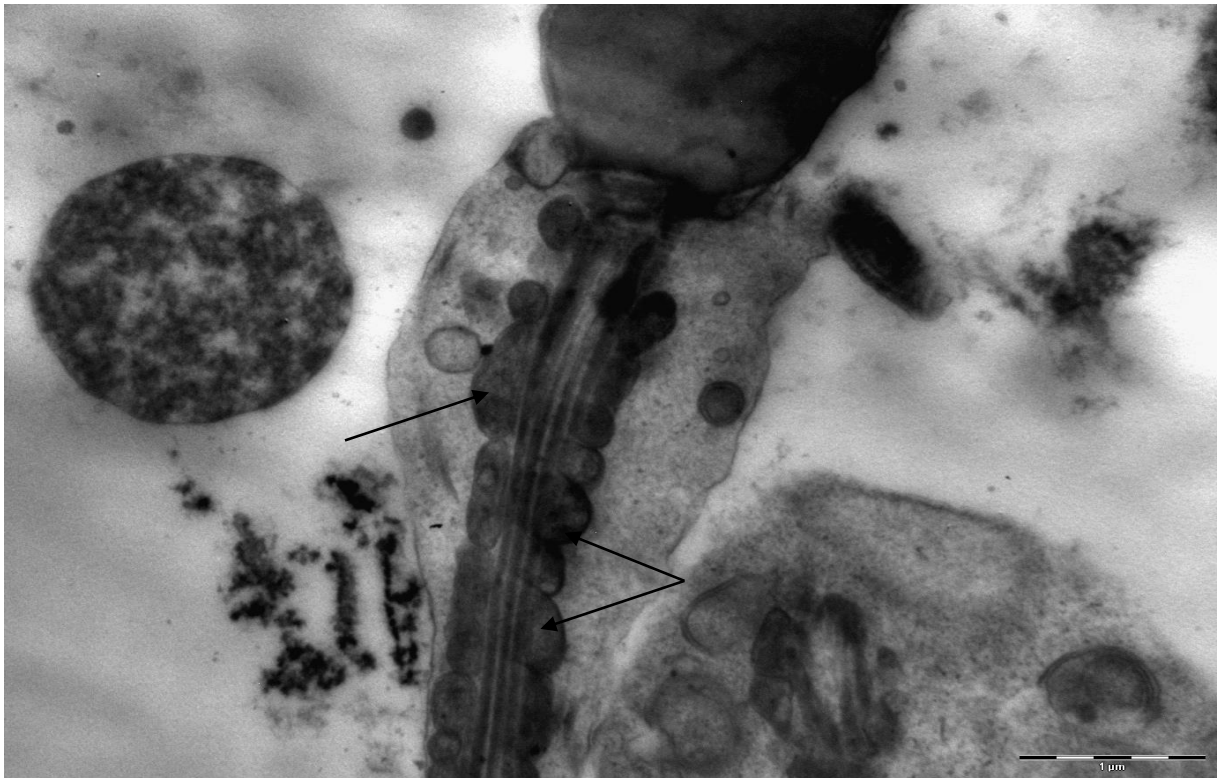


Рисунок 7 - Продольный срез через средний отдел жгутика

*Примечание:* незначительное набухание митохондрий (показано стрелками), спиральная упаковка не нарушена. x 14 000

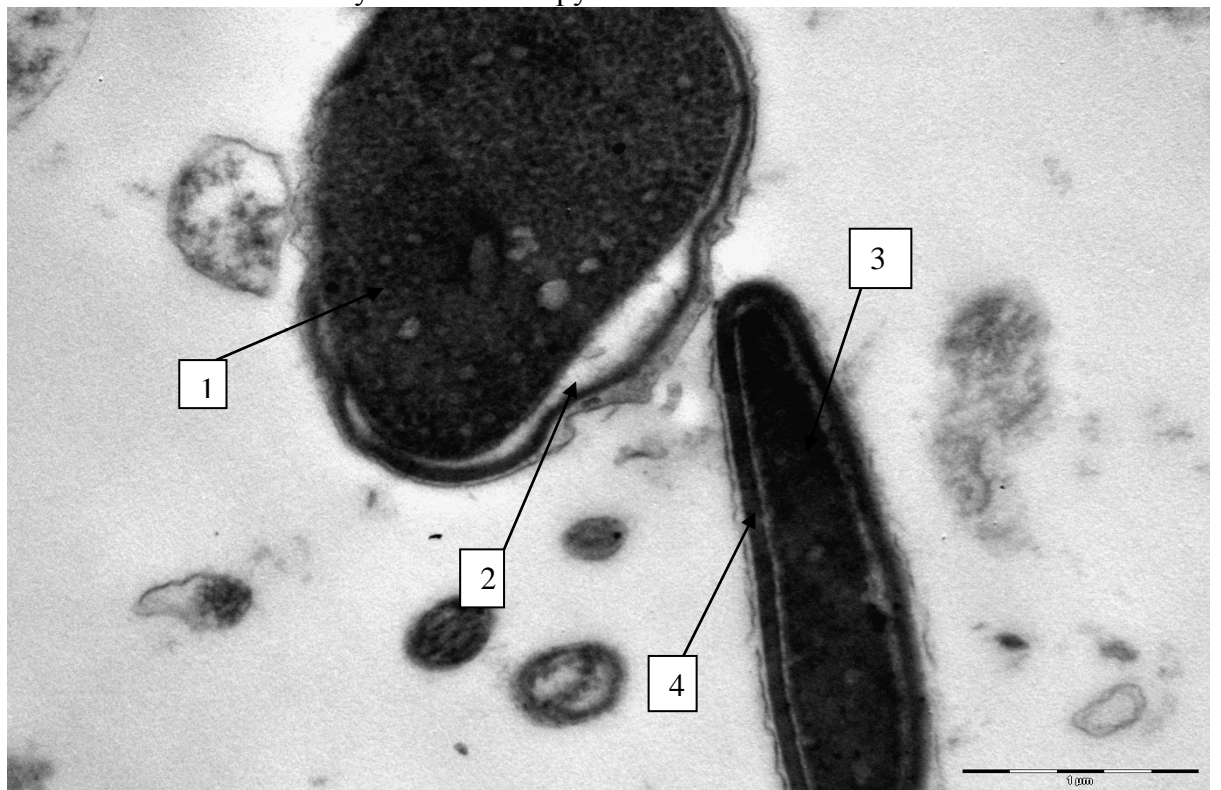


Рисунок 8 - Головки сперматозоидов

*Примечание:* 1 - гранулярный, неконденсированный хроматин; 2 - волнистость акросомы с небольшим расширением постакросомальной зоны; 3 - гиалиноподобный хроматин; 4 - нормальная структура акросомы. x 18 000



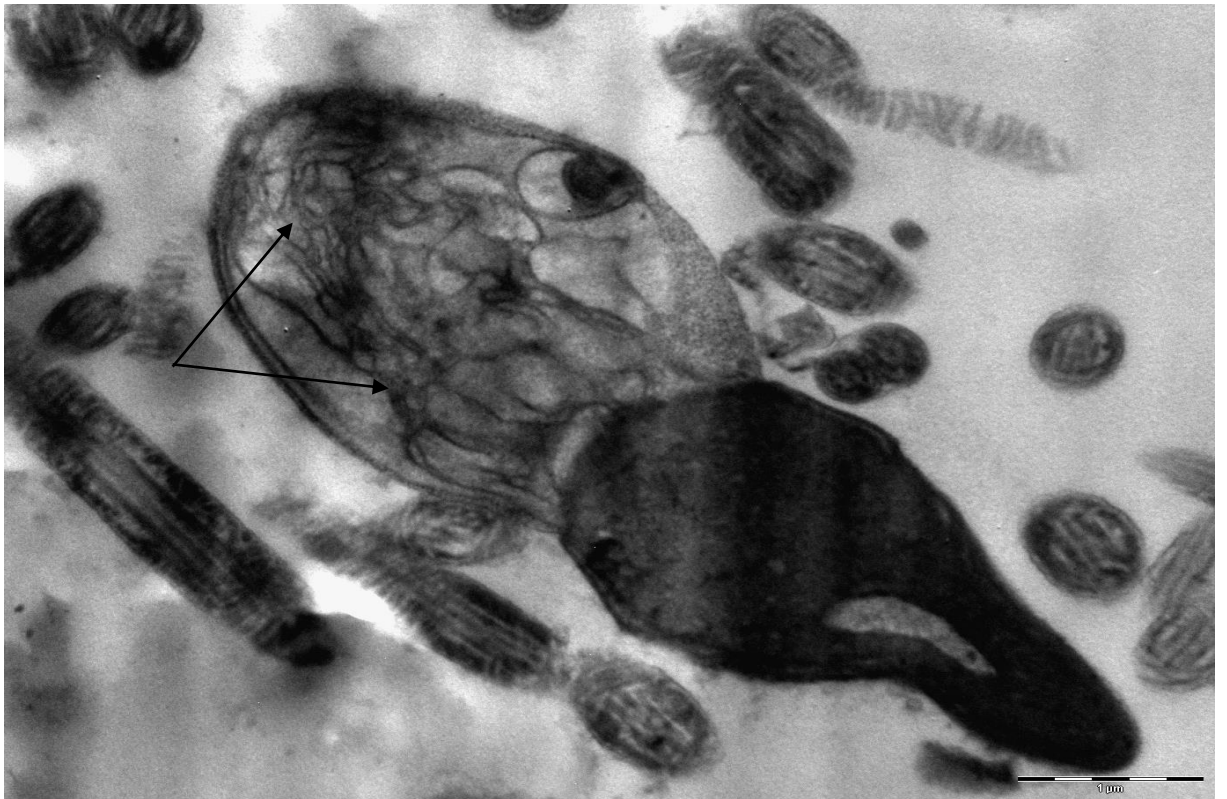


Рисунок 9 - Цитоплазматическая капля с гиперплазированной ядерной мембраной

*Примечание:* показано стрелками. x 14 000

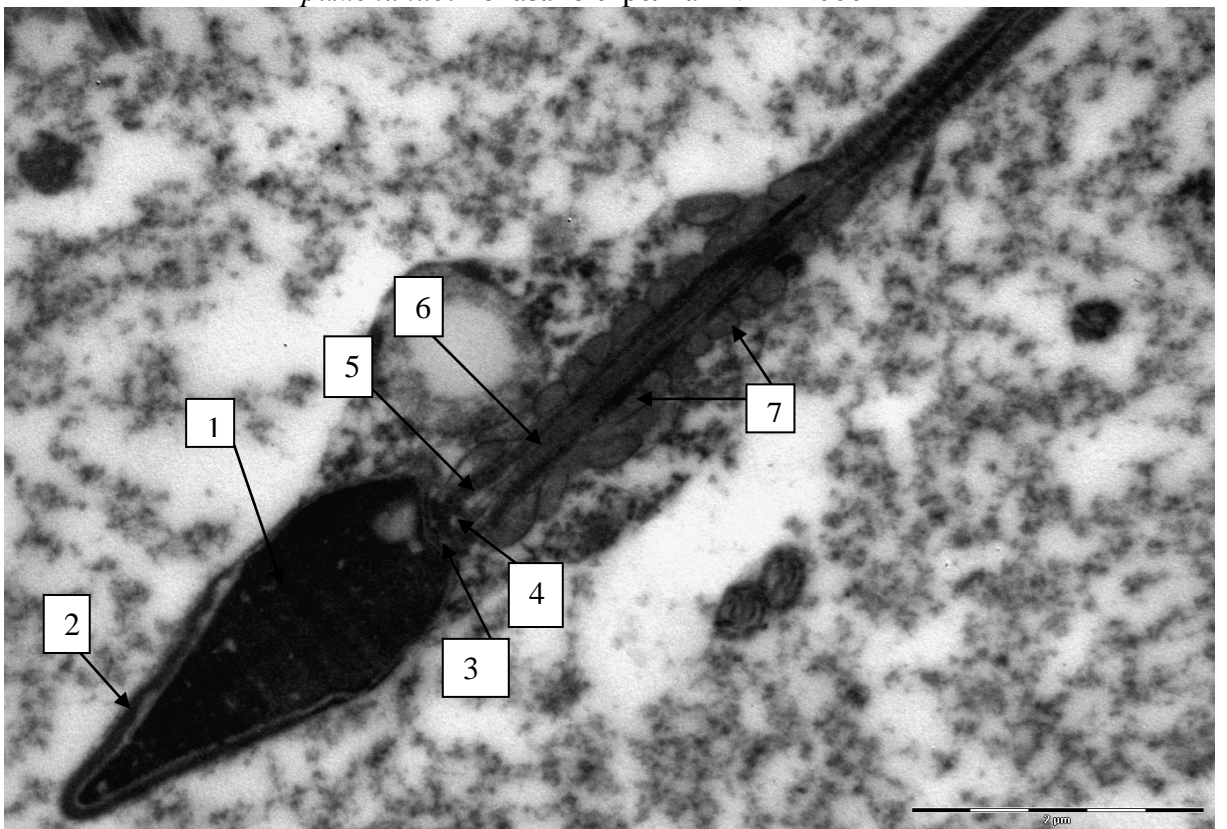


Рисунок 10 - Ультраструктура сперматозоида

*Примечание:* 1 - хроматин; 2 - акросома; 3 - базальная пластинка; 4 - центриоль; 5 - сегментированные столбики; 6 - аксонема; 7 - митохондрии. x 11 000

При ЭМИС у пациентов основной группы получены следующие результаты.

*Ультраструктура головок сперматозоидов.* У 37 пациентов (37%) данной группы хроматин ядер сперматозоидов зрелый, гомогенного вида (рисунок 2). В 40 случаях (40%) преобладали сперматозоиды с вакуолизацией ядер, но зрелым хроматином.

Вакуоли были одиночными (рисунок 11) или множественными (рисунок 12), небольшими или крупными (рисунок 13), но в большинстве случаев деформации головок не отмечалось.

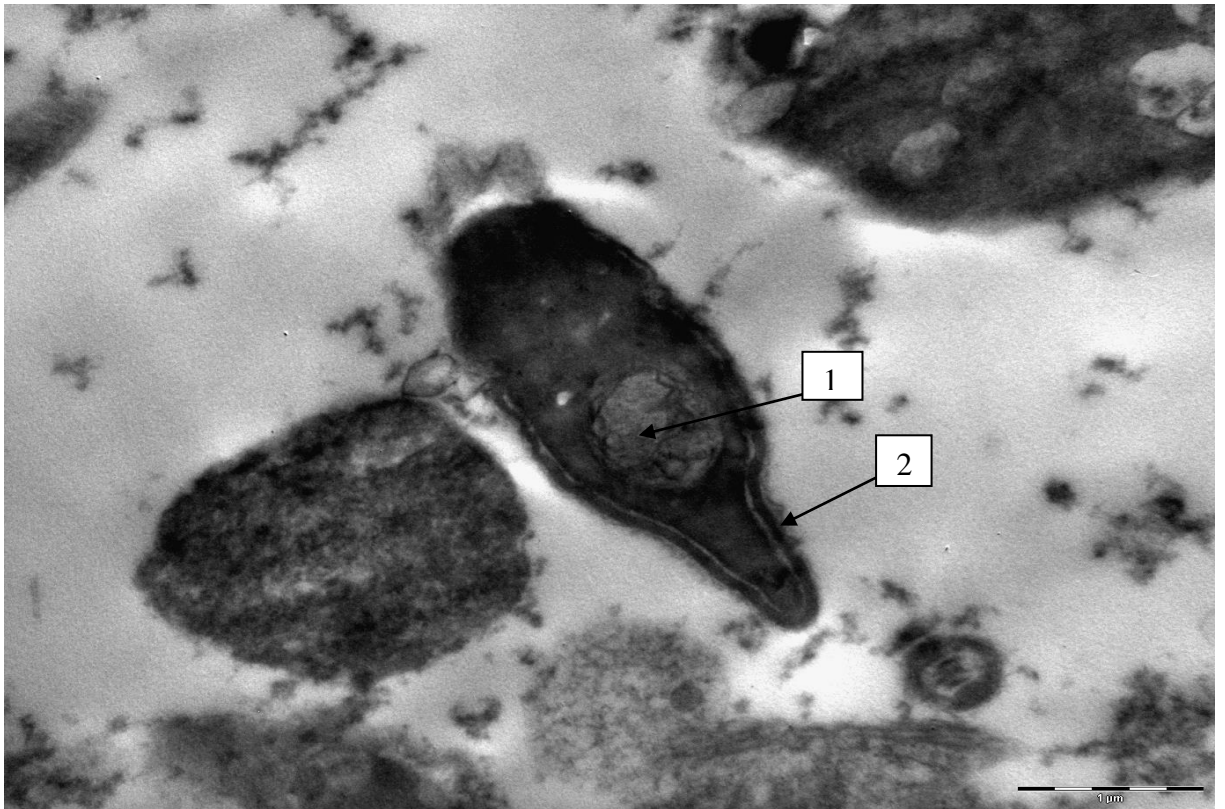


Рисунок 11 - Головка сперматозоида

*Примечание:* 1 - вакуолизация хроматина с образованием полости, содержащей мелкозернистые массы и мембраноподобные структуры; 2 - ультраструктура акросомы без особенностей. x 14 000

В содержимом вакуолей просматривались мелкозернистые массы (рисунок 11), мембраноподобные структуры (рисунок 12) или бесструктурные массы (рисунок 13). У 10 пациентов (10%) в головках сперматозоидов обнаружен гранулярный неконденсированный хроматин (рисунок 14).

Сочетание таких изменений как вакуолизация и гранулярность хроматина ядер сперматозоидов обнаружены у 12 пациентов (12%) (рисунок 15). Единичные сперматозоиды с круглыми головками (глобулозооспермия) выявлены у одного пациента (1%) (рисунок 16).

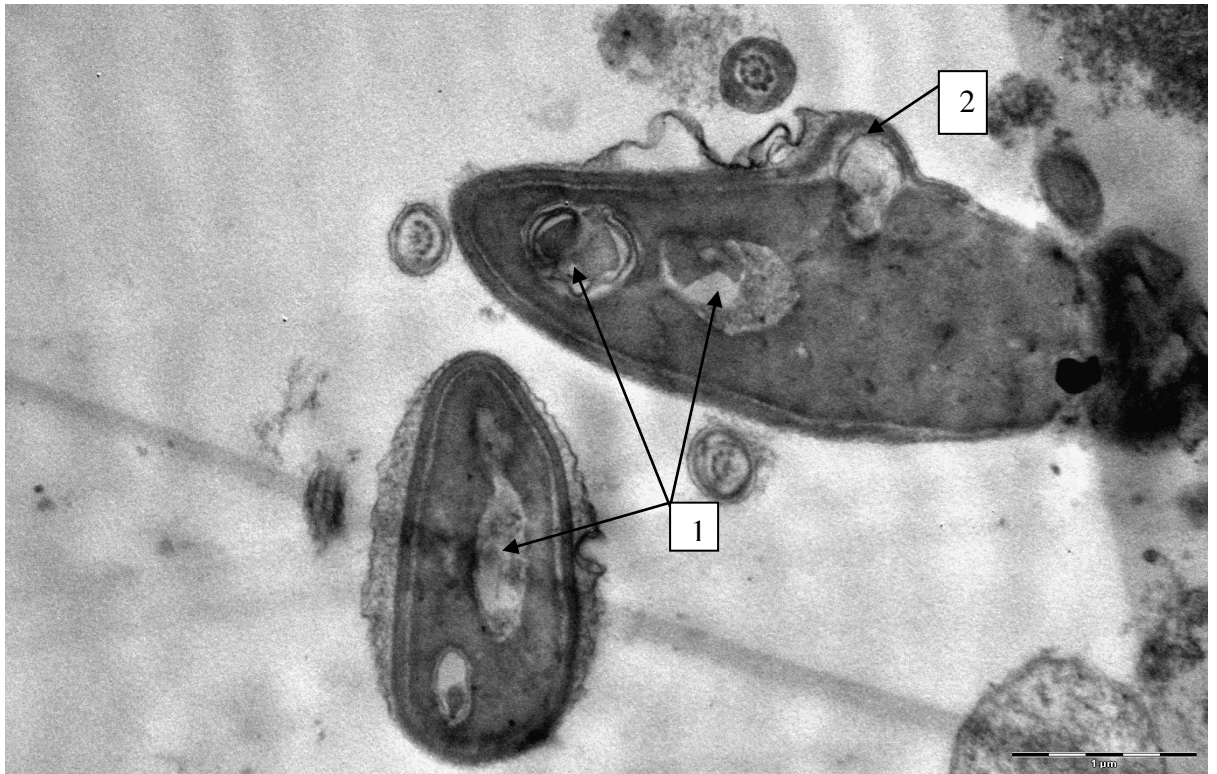


Рисунок 12 - Головки сперматозоидов

*Примечание:* 1 - вакуолизация хроматина с образованием полостей, содержащих мембраноподобные структуры и мелкозернистые массы; 2 - смещение стенкой вакуоли акросомы, имеющей нормальную ультраструктуру. x 14 000

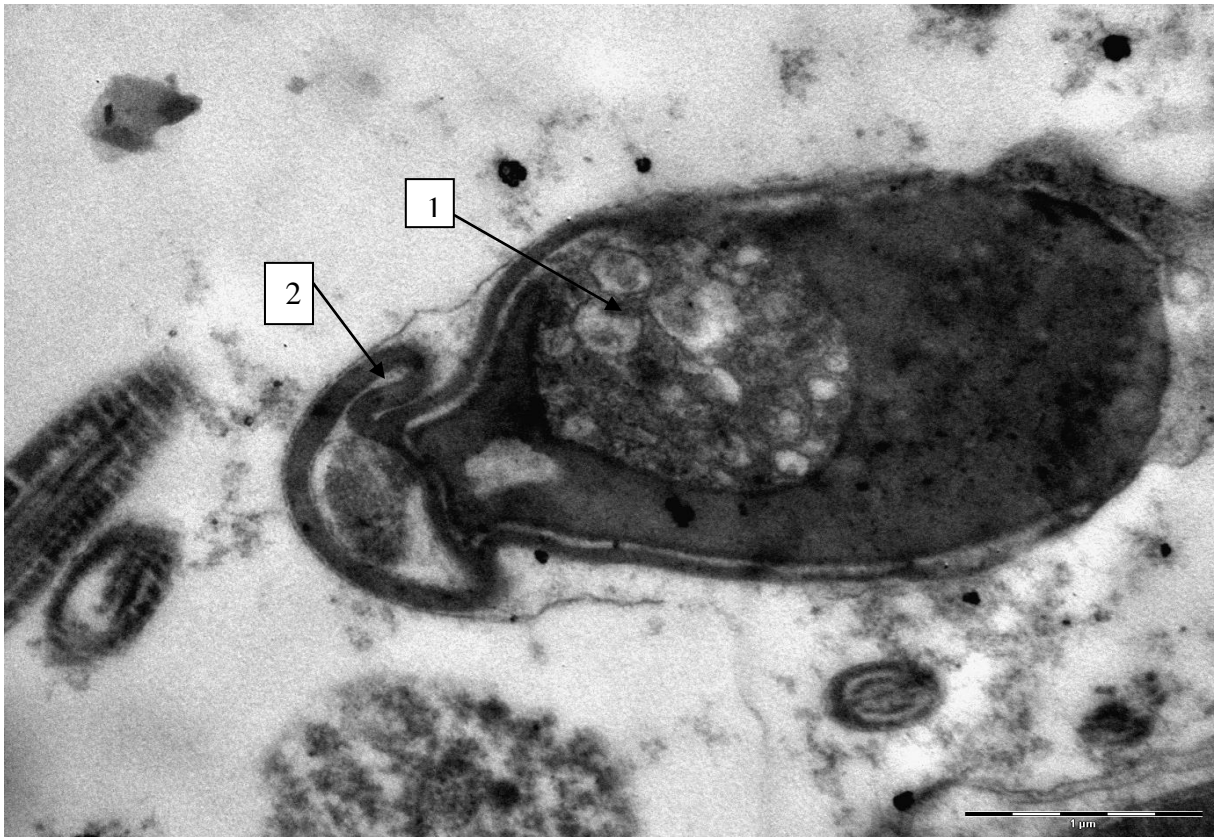


Рисунок 13 - Головка сперматозоида

*Примечание:* 1- вакуолизация хроматина; 2 - дупликация акросомы. x 18 000



Рисунок 14 - Головка сперматозоида

*Примечание:* 1- грубогранулярный неконденсированный хроматин; 2 - гипоплазия акросомы.  
x 18 000

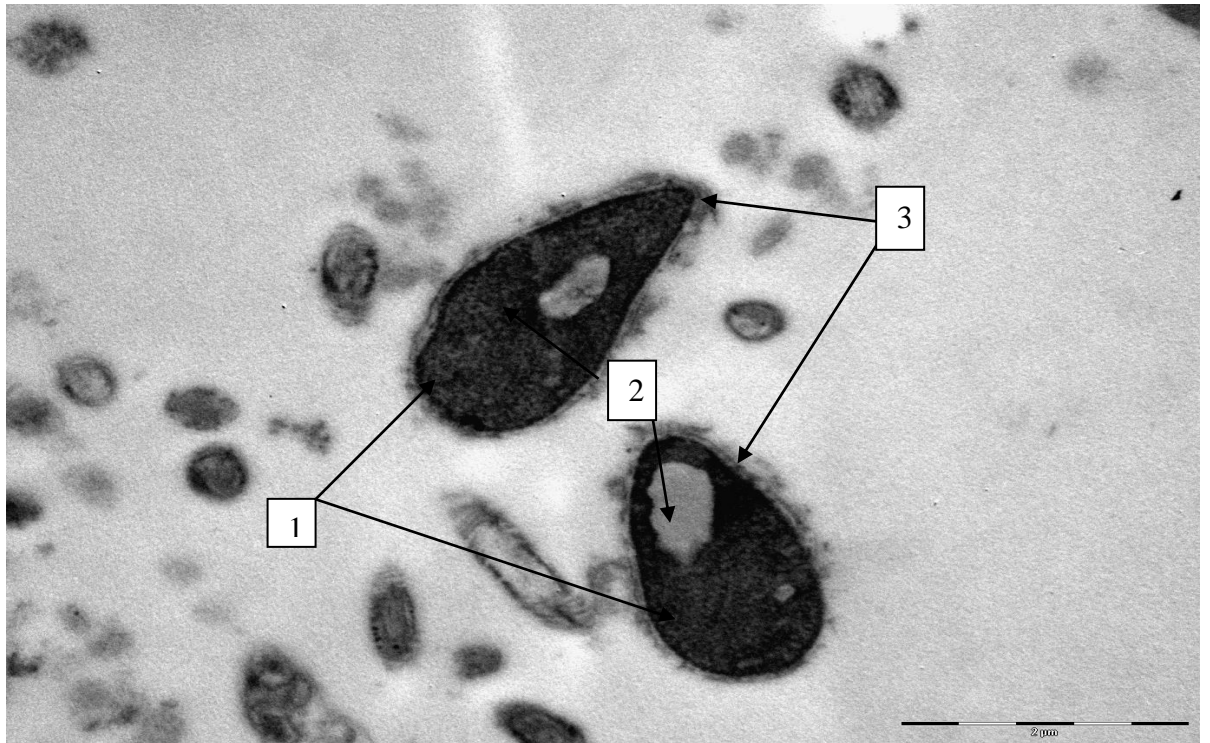


Рисунок 15 - Головки сперматозоидов

*Примечание:* 1- гранулярный, неконденсированный хроматин; 2 - вакуолизация хроматина; 3 - деградация акросомы. x 11 000

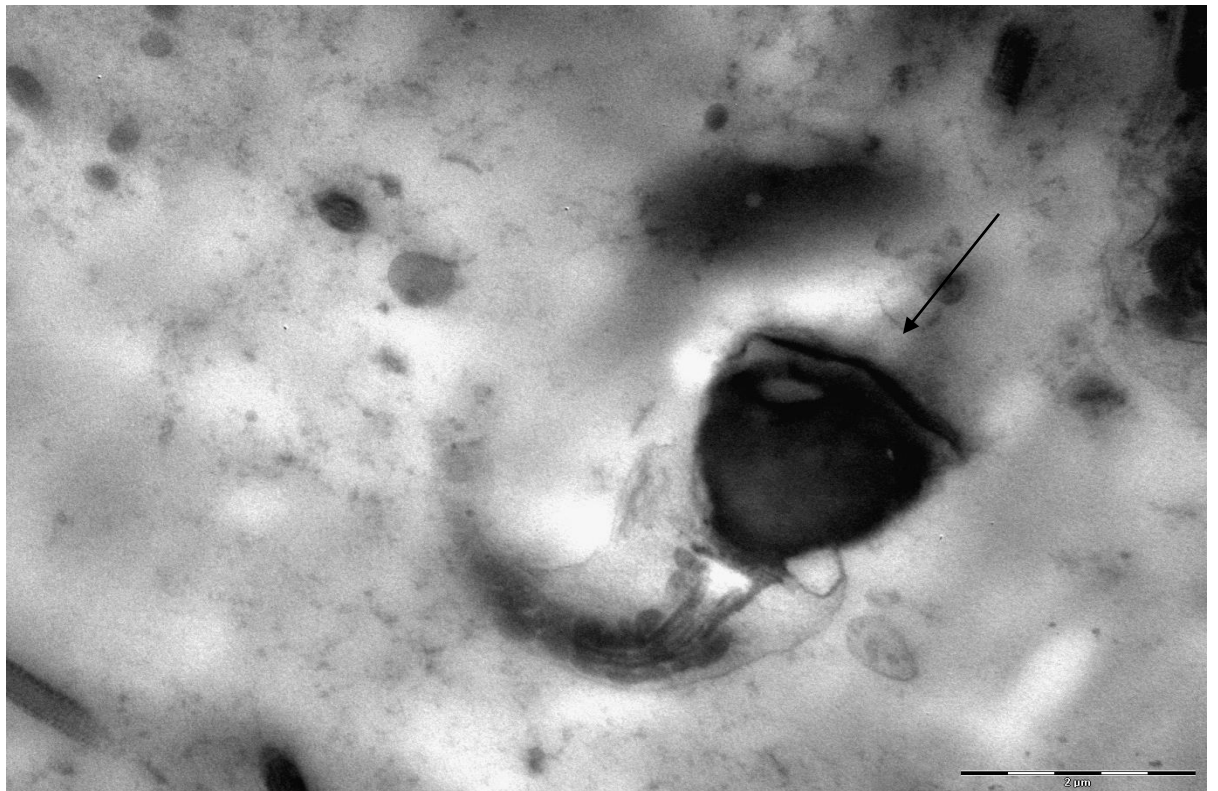


Рисунок 16 - Головка сперматозоида

*Примечание:* глобулозооспермия и гипоплазия акросомы(показано стрелкой). x 8900

Результаты электронно-микроскопического исследования ядер сперматозоидов пациентов основной группы и группы сравнения приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Данные электронно-микроскопического исследования ядер сперматозоидов

ЭМИС	Группа сравнения n = 30	Основная группа n = 100	p
<b>ЯДРО</b>			
Преобладание сперматозоидов гомогенным хроматином	30(100%)	37(37%)	p < 0,0001
Зрелый вакуолизированный хроматин	0(*)	40(40%)	p < 0,0001
Гранулярный неконденсированный хроматин	1(3%)	12(12%)	p < 0,0477
Гранулярный вакуолизированный хроматин	0(*)	10(10%)	p < 0,0011
Глобулозооспермия	0(0%)	0(*)	p > 0,05

*Примечание:* \*единичные сперматозоиды с указанным признаком

В результате проведенного исследования установлено, что у пациентов в группе сравнения преобладают сперматозоиды со зрелым компактным хроматином (100%), а различные варианты нарушения хроматина обнаружены в единичных сперматозоидов. В основной группе достоверно чаще выявлены сперматозоиды с измененной структурой хроматина, наиболее распространенной из которых является его вакуолизация (40%).

Нормальная ультраструктура акросомы сперматозоидов отмечена у 46 пациентов (46%) (рисунок 2). Наиболее распространенными изменениями акросомы, которые были выявлены у 35 пациентов (35%), стали такие как ее набухание (рисунок 17), вакуолизация (рисунок 18), фрагментация (рисунок 19) и деградация (рисунок 20). Поскольку такие изменения акросомы встречались в каждом случае, можно предположить, что это преждевременная акросомальная реакция.

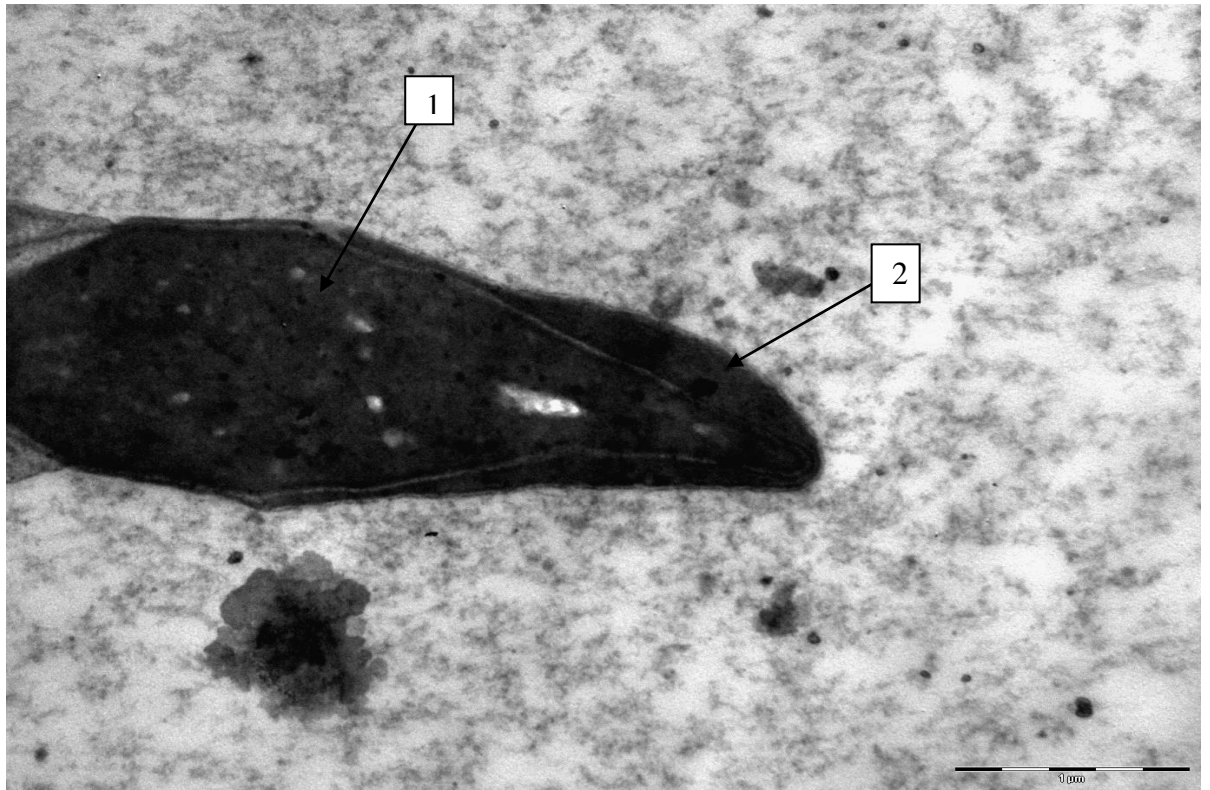


Рисунок 17 - Головка сперматозоида

Примечание: 1- конденсированный хроматин; 2 - набухание акросомы. x 18 000

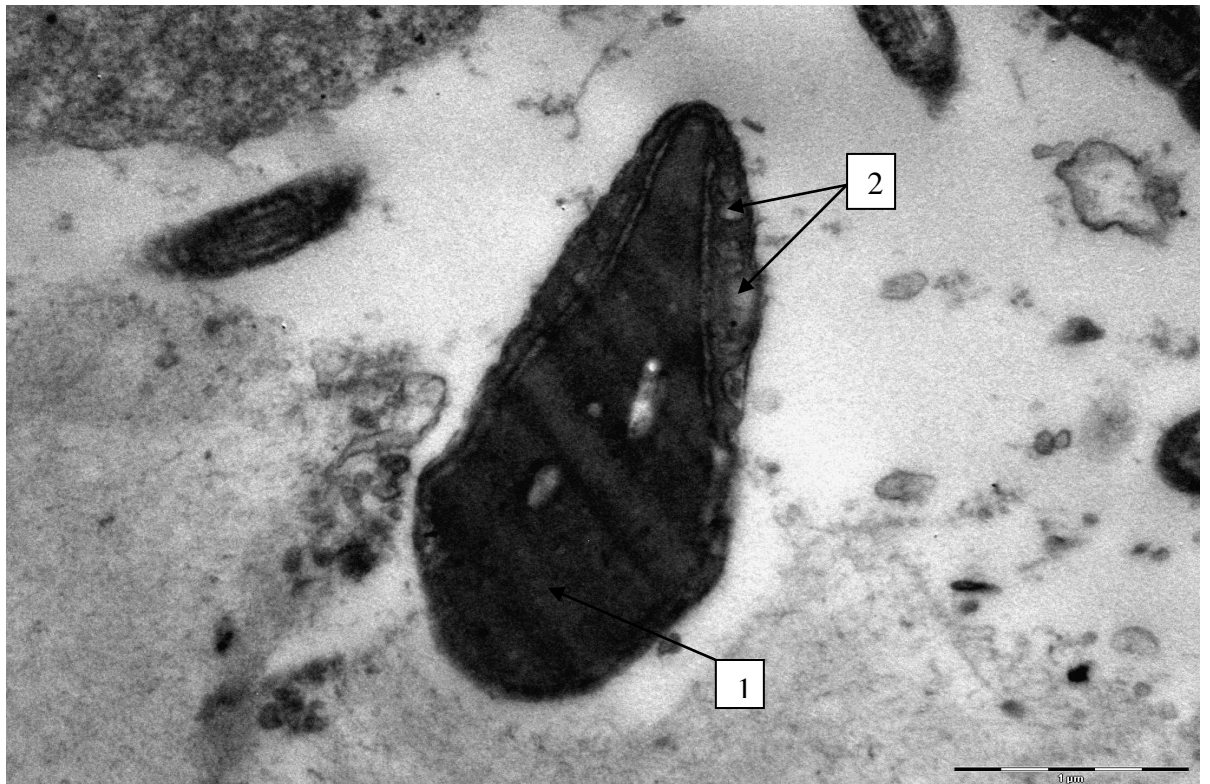


Рисунок 18 - Головка сперматозоида

Примечание: 1 - конденсированный хроматин; 2 - набухание и вакуолизация акросомы. x 18 000

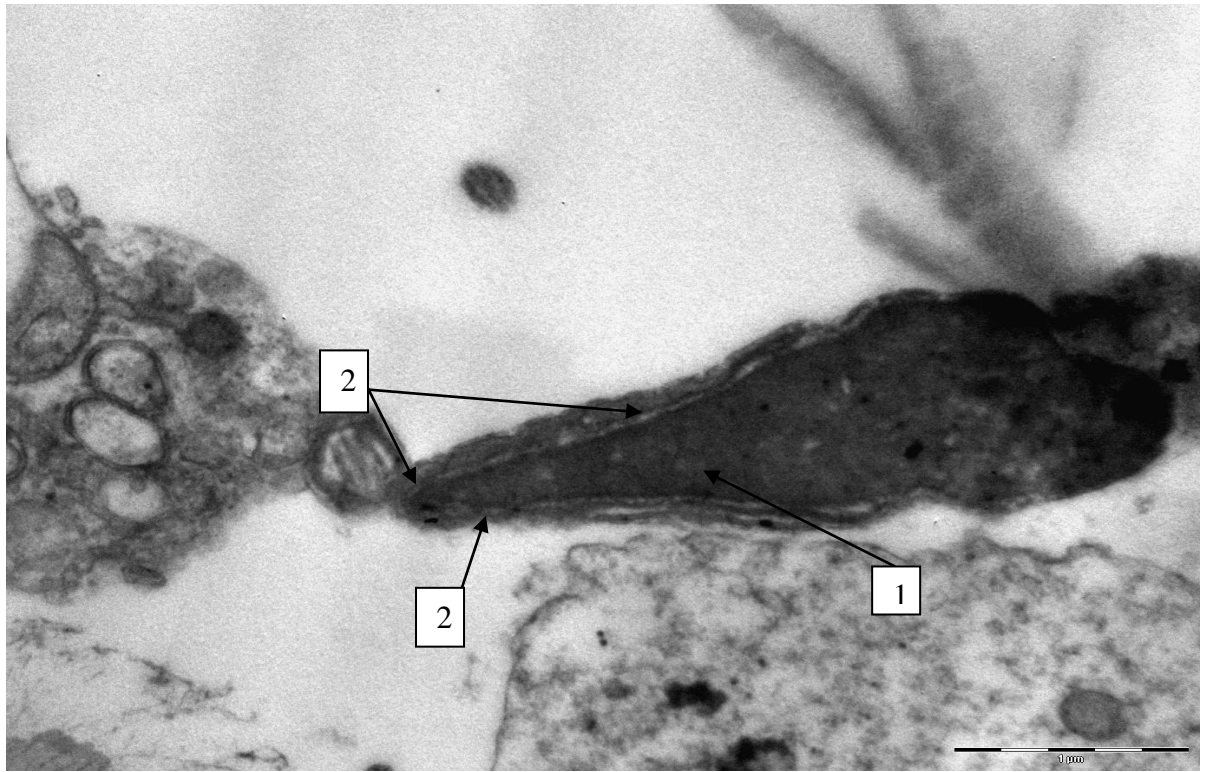


Рисунок 19 - Головка сперматозоида  
 Примечание: 1 - конденсированный хроматин; 2- набухание и фрагментация акросомы. x 18 000

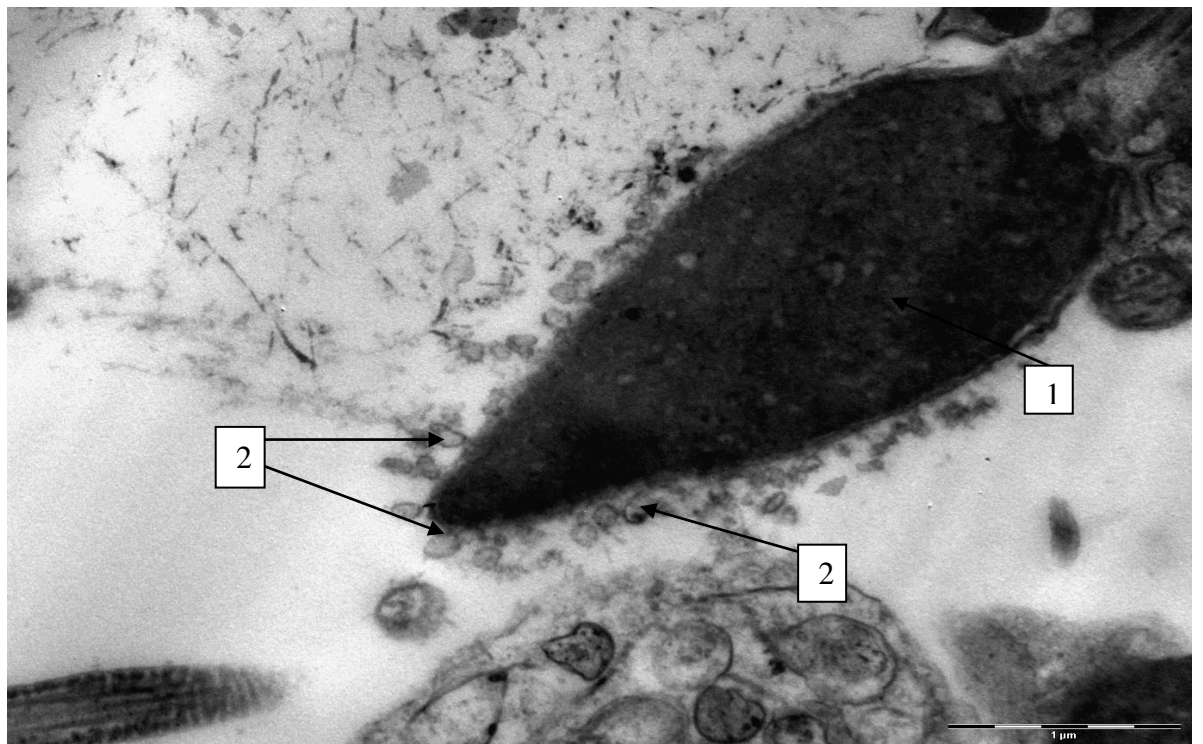


Рисунок 20 - Головка сперматозоида  
 Примечание: 1- неконденсированный хроматин; 2 – деградация акросомы. x 18 000



У 18 пациентов (18%) этой группы обнаружена волнистость акросомы с увеличением ее площади и расширением постакрсомального пространства (рисунок 21).

У двух пациентов (2%) в эякуляте выявлены единичные сперматозоиды с гипоплазией акросомы (рисунки 14, 16). У трех пациентов (3%) обнаружены единичные сперматозоиды с дубликацией акросомы (рисунок 13). У одного из этих пациентов (1%) дубликация акросомы сочеталась с ее гипоплазией (рисунок 22).

Данные электронно-микроскопического исследования акросомы приведены в таблице 5.

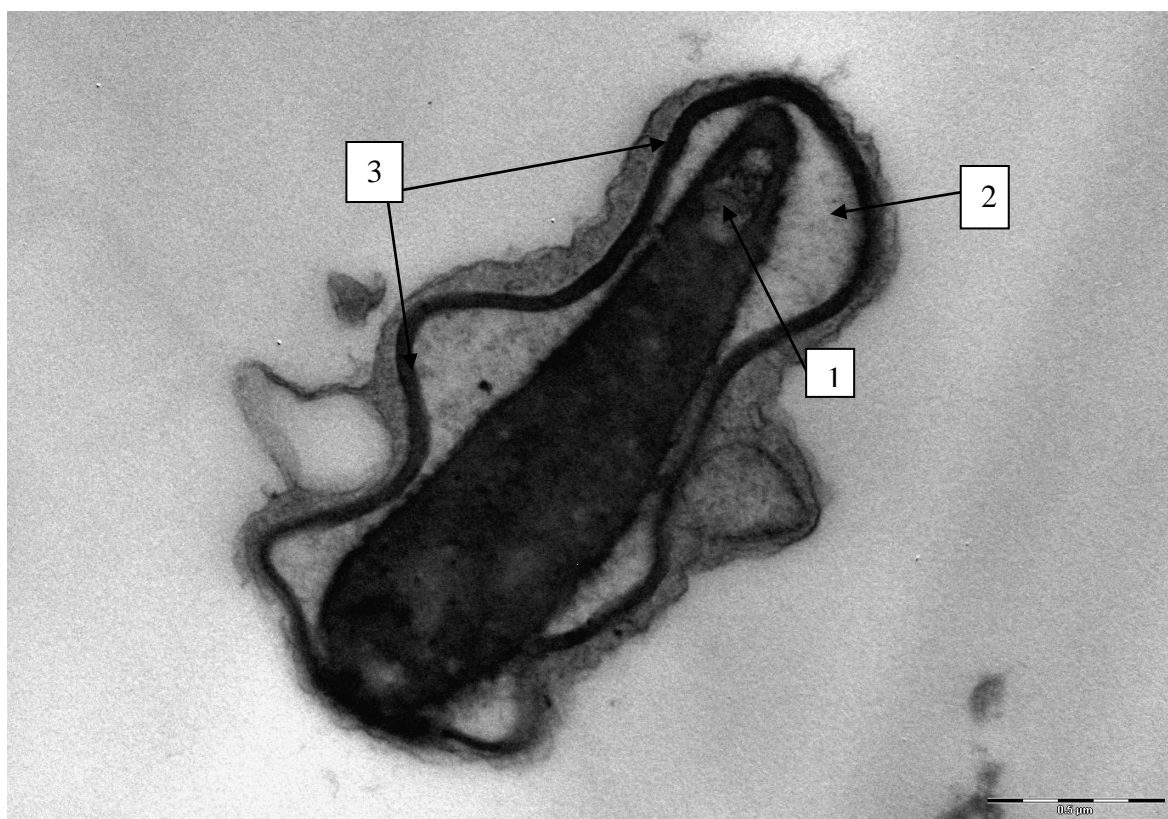


Рисунок 21 - Головка сперматозоида

*Примечание:* 1- вакуолизация хроматина; 2 - волнистость гиперплазированной акросомы; 3 - расширение постакрсомального пространства. x 18 000

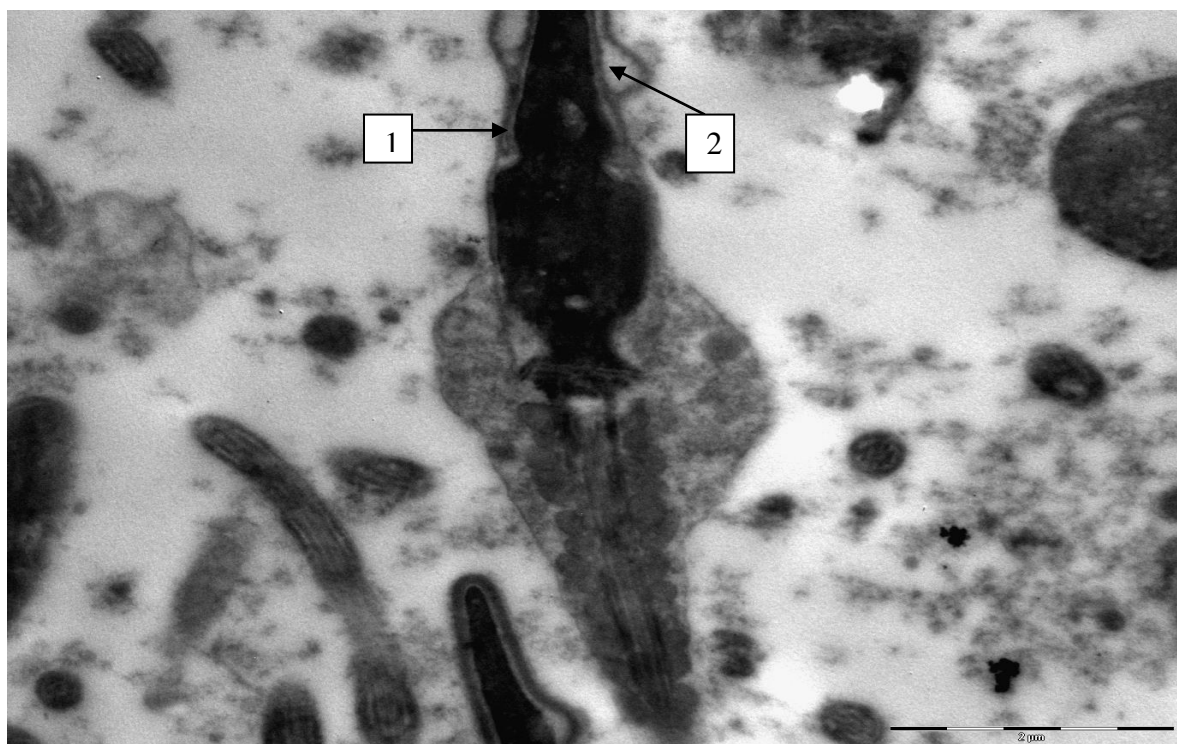


Рисунок 22 - Изменение ультраструктуры акросомы

Примечание: 1- гипоплазия; 2 - дупликация. x 11 000

Таблица 5 – Данные электронно-микроскопического исследования акросомы

ЭМИС	Группа сравнения n = 30	Основная группа n = 100	p
<b>АКРОСОМА</b>			
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 постакросомального 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

Примечание: \*единичные сперматозоиды с указанным признаком

В проведенном исследовании диагностировано, что в группе сравнения преобладают сперматозоиды с типичной структурой акросомы, в то время как в основной группе достоверно чаще выявляются набухание, вакуолизация, фрагментация и деградация акросомы (35%) и, в меньшей степени, ее

волнистость (18%). Такие изменения акросомы как гипоплазия, дупликация в группе сравнения не выявлены, а в основной группе их доля также невелика и суммарно составляет 6%.

*Ультраструктура шеек сперматозоидов.* Нарушение ультраструктуры шеек не выявлено ни у одного пациента данной группы. У основной массы сперматозоидов шейки сформированы правильно, хорошо визуализировались все составляющие шейку органеллы (рисунок 3). В одном случае (1%) обнаружены единичные сперматозоды с деструкцией нескольких триплетов в центриоли (рисунок 23). В пяти случаях (5%) обращало на себя внимание присоединение к головке правильно сформированной шейки не по оси сперматозоида, а со смещением в сторону (рисунки 24, 25). Смещение жгутика относительно оси сперматозоида, несомненно, приведет к нарушению биомеханики его движения, но такое нарушение прикрепления шейки во всех случаях сопровождалось изменением со стороны митохондрий: либо деструкцией крист (рисунок 24), либо пикнозом митохондрий (рисунок 25).

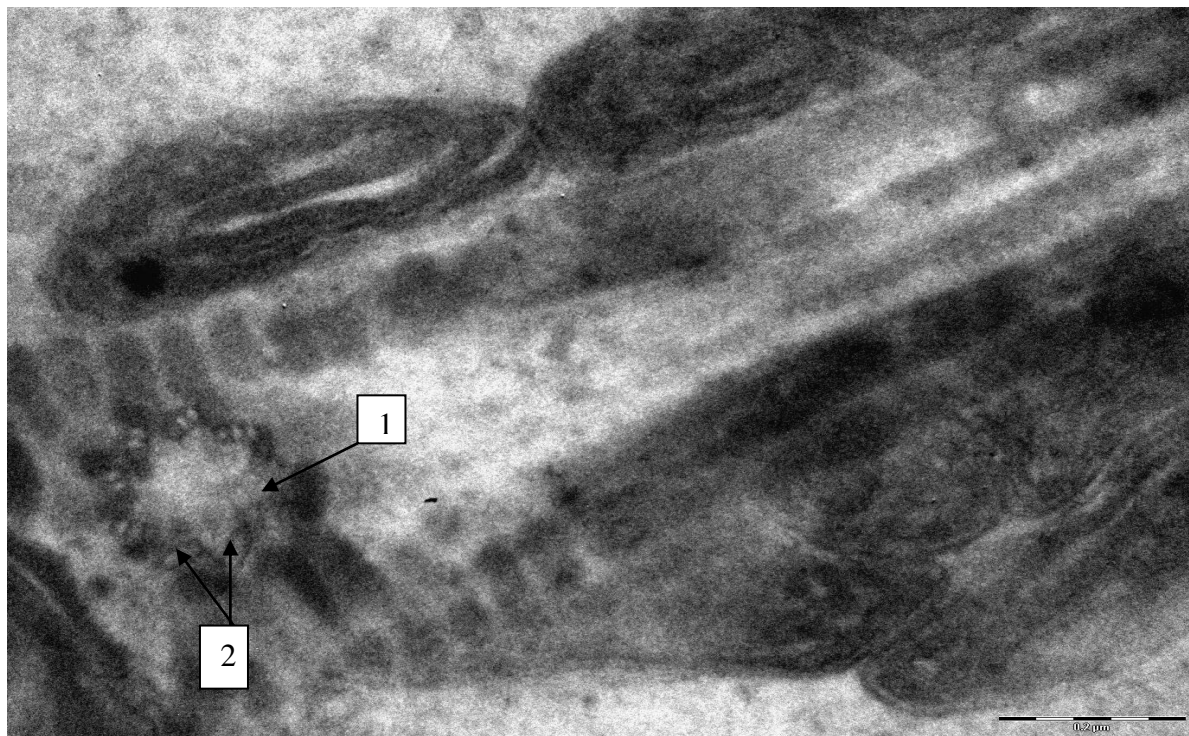


Рисунок 23 - Центриоль

*Примечание:* 1 - отсутствие двух триплетов; 2 - нарушение ультраструктуры двух триплетов. х 71 000

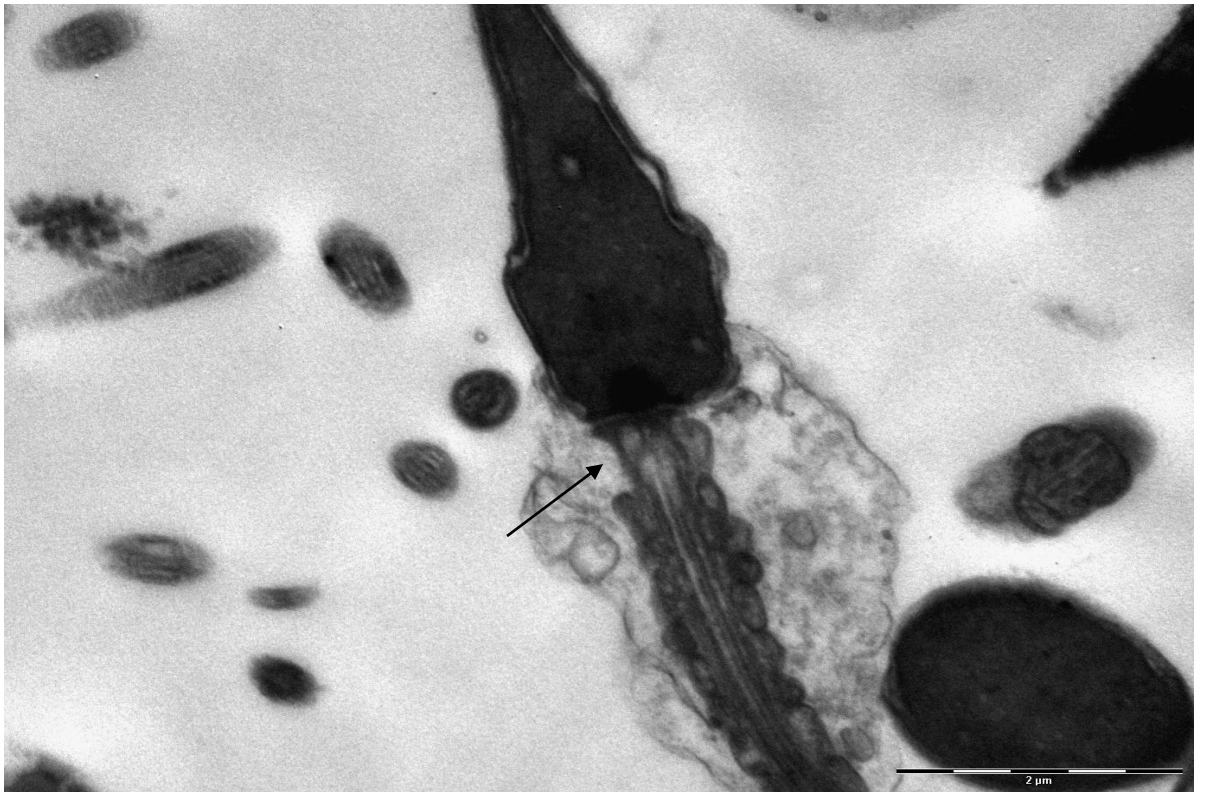


Рисунок 24 - Смещение базальной пластинки шейки сперматозоида относительно его оси

*Примечание:* показано стрелкой. x 11 000

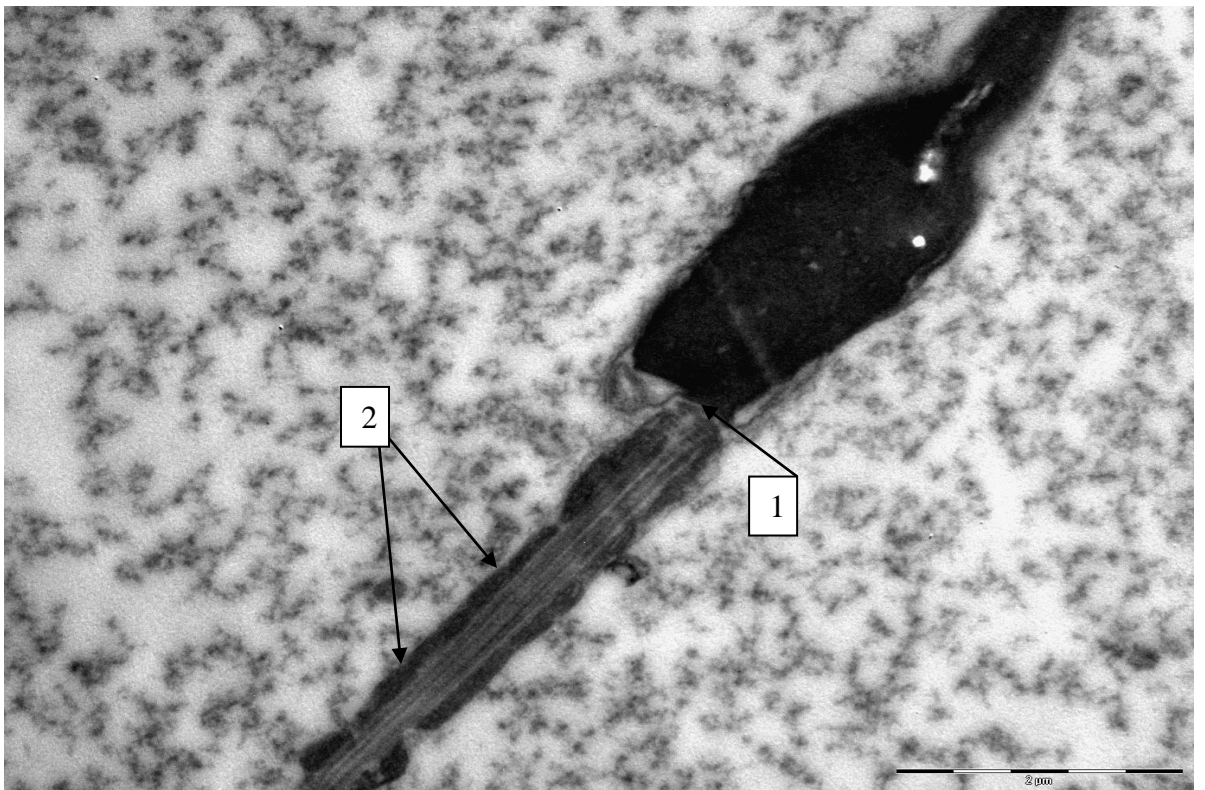


Рисунок 25 - Продольный срез сперматозоида

*Примечание:* 1- смещение базальной пластинки шейки сперматозоида относительно его оси; 2 - пикноз митохондрий. x 11 000

В двух случаях (2%) выявлены сперматозоиды с непрочным соединением правильно сформированной шейки с головкой сперматозоида (рисунок 26).

В единичных случаях выявлены сперматозоиды с признаками нарушения дифференцировки. У таких сперматозоидов структуры шеек не сформированы и отмечается присоединение жгутика под углом к оси сперматозоида (рисунок 27).

*Ультраструктура аксонемы сперматозоидов.* При ЭМИС обнаружены единичные сперматозоиды, у которых найдены изменения в ультраструктуре аксонемы. Обычно эти изменения были связаны либо с отсутствием каких-либо структур аксонемы (рисунки 28,29), либо с наличием избыточного количества структур (рисунки 30, 31).

Данные электронно-микроскопического исследования шеек и аксонемы сперматозоидов приведены в таблице 6.

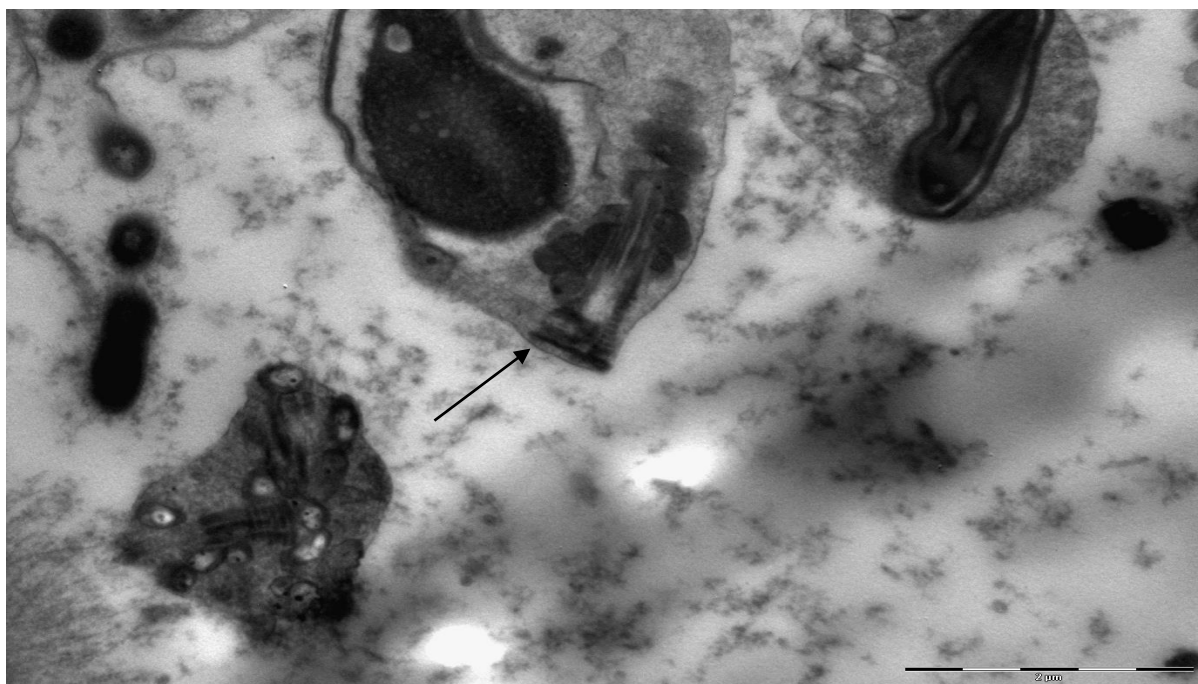


Рисунок 26 - Непрочное соединение базальной пластинки шейки с головкой сперматозоида

*Примечание:* показано стрелкой. x 11 000

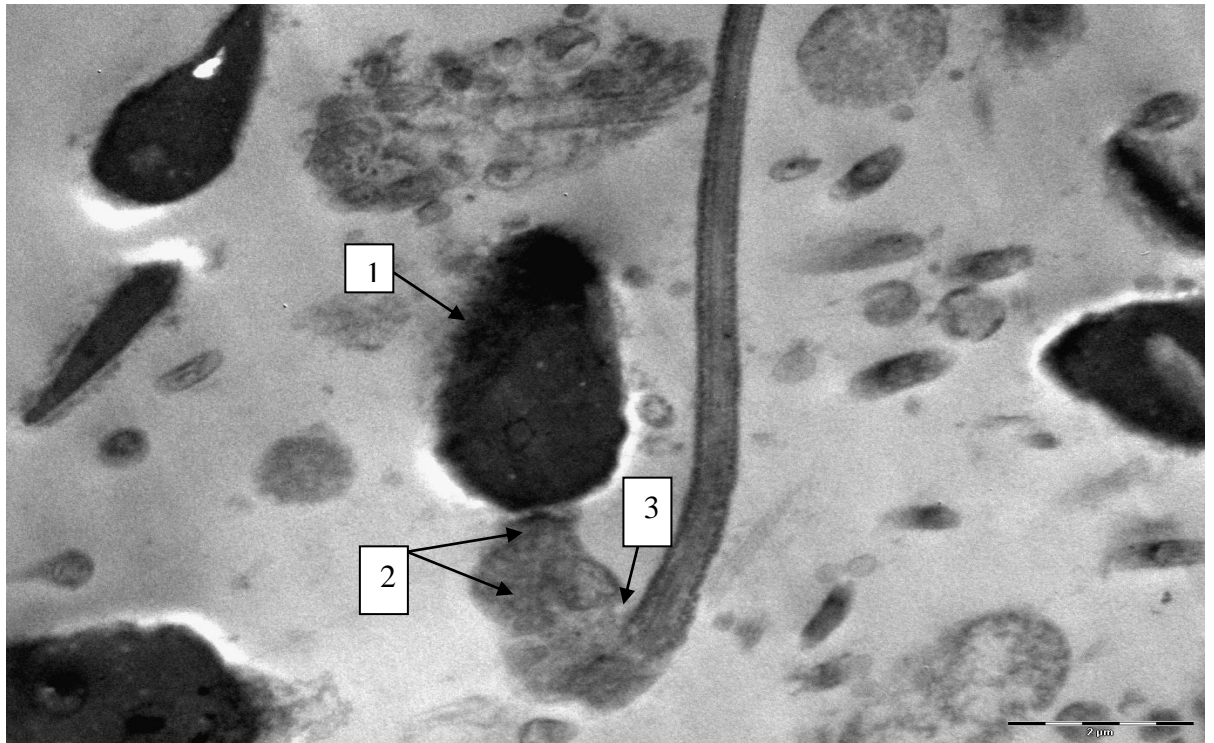


Рисунок 27 - Нарушение дифференцировки сперматозоида

*Примечание:* 1 - деградация акросомы; 2 - отсутствие правильно сформированной шейки сперматозоида; 3 – гетероаксильность жгутика под углом меньше 90 градусов. x 7100

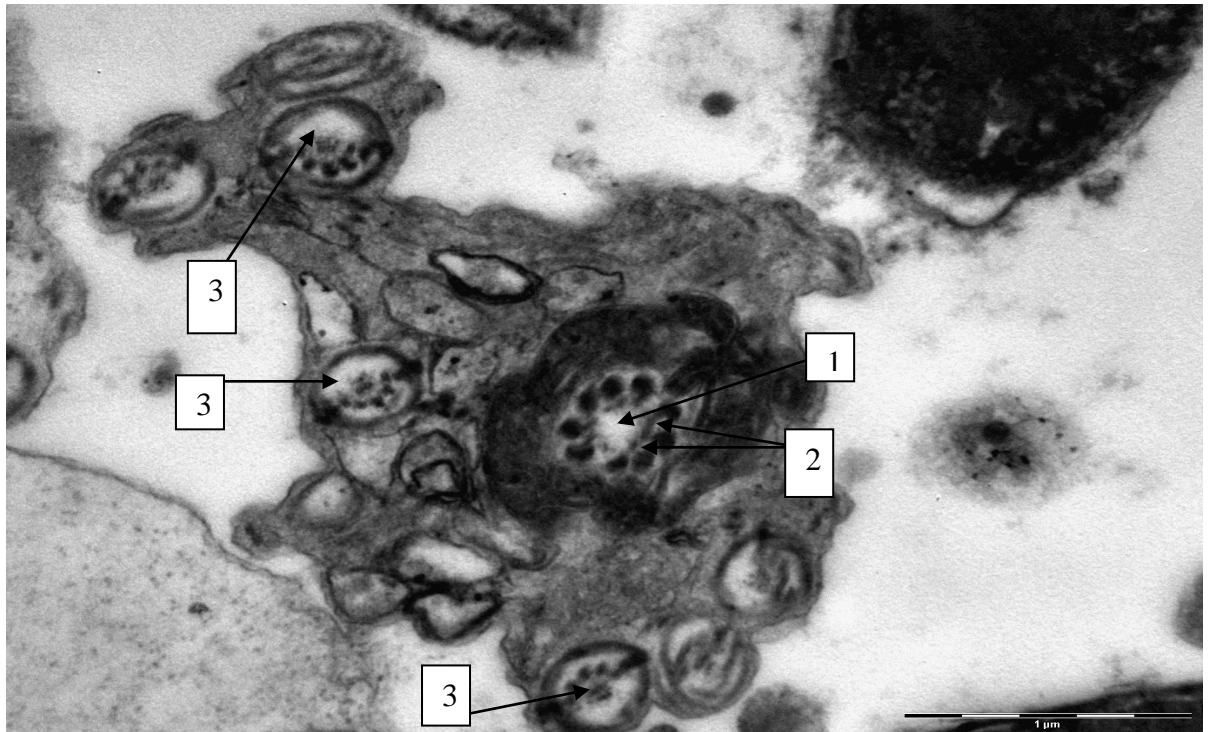


Рисунок 28 - Поперечный срез через отделы жгутика

*Примечание:* 1- отсутствие центральной пары дуплетов в среднем отделе жгутика; 2 – деструкция периферических дуплетов и радиальных спиц в среднем отделе жгутика; 3 – центральная пара дуплетов и пять пар периферических дуплетов на поперечных срезах основного отдела жгутика. x 56 000

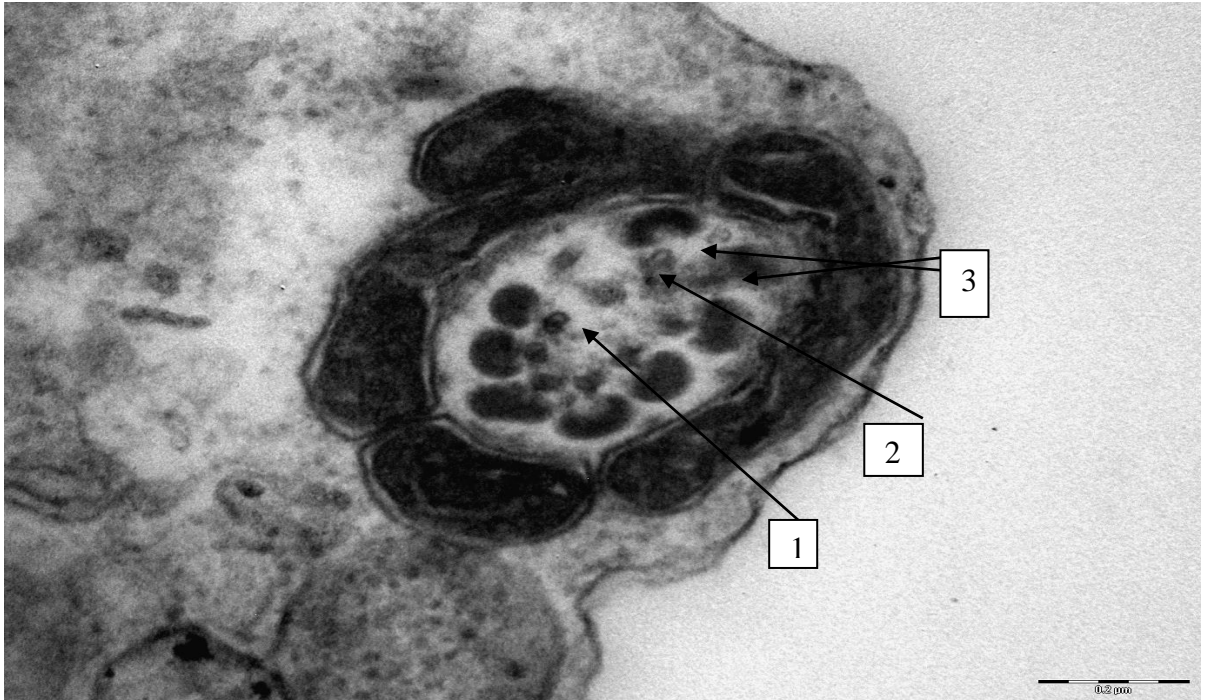


Рисунок 29 - Поперечный срез через средний отдел жгутика

*Примечание:* 1 - отсутствие центральной пары дуплетов; 2 - отсутствие четырех периферических пар дуплетов; 3 - деструкция радиальных спиц и дополнительных плотных фибрилл. x 56 000

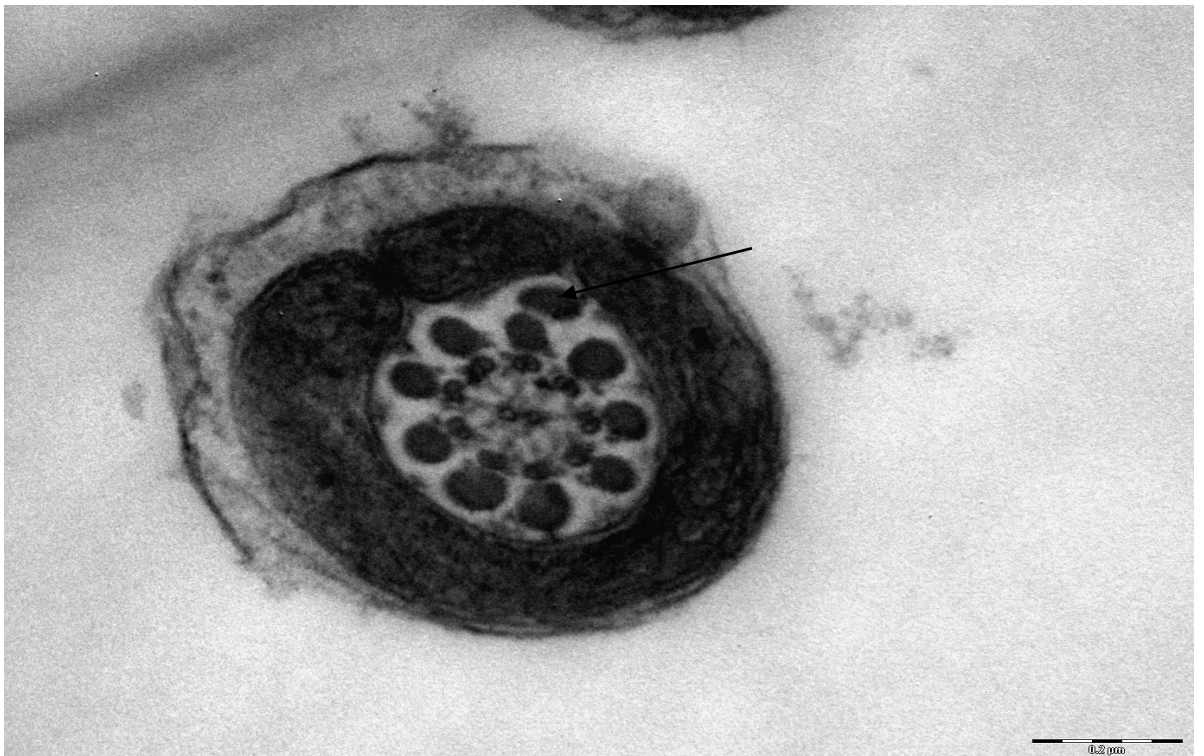


Рисунок 30 - Поперечный срез через средний отдел жгутика

*Примечание:* дополнительная плотная фибрилла в структуре аксонемы (показано стрелкой). x 56 000

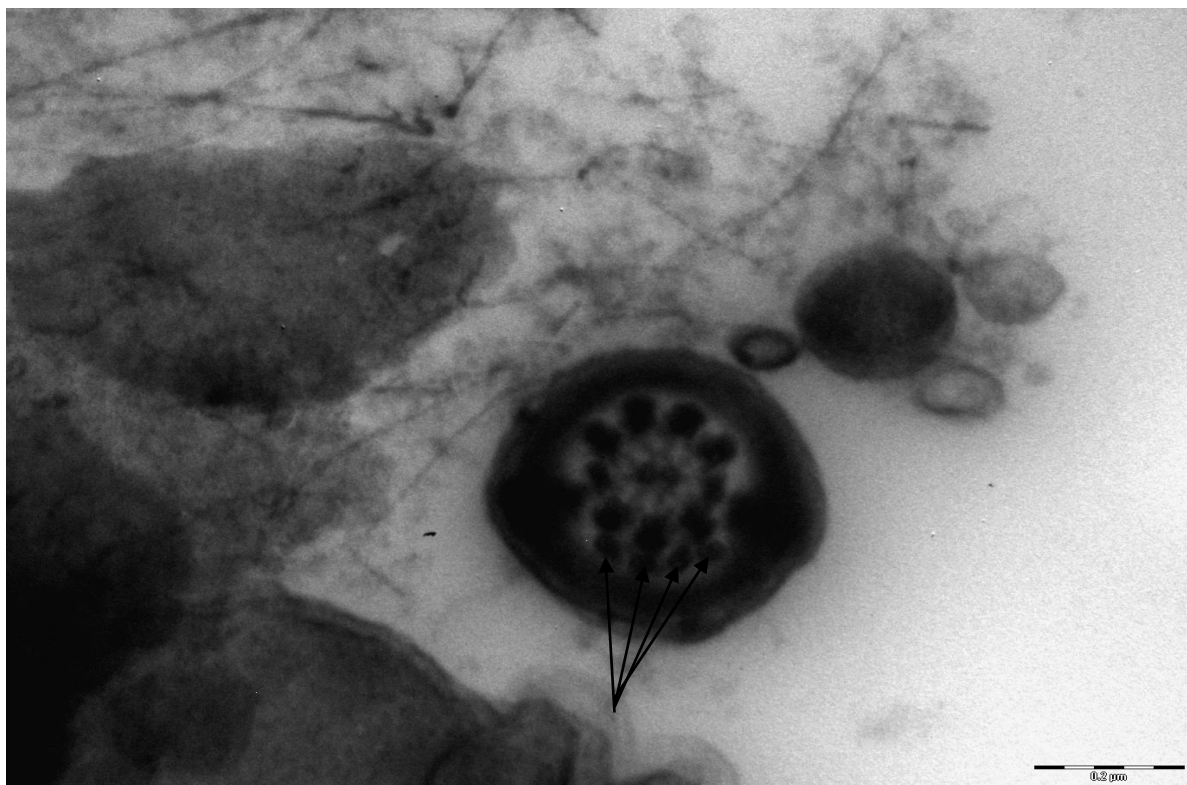


Рисунок 31 - Поперечный срез через основной отдел жгутика  
 Примечание: дополнительные дуплеты в структуре аксонемы (1-4). x 56 000

Таблица 6 – Данные электронно-микроскопического исследования шеек и аксонемы сперматозоидов

ЭМИС	Группа сравнения n = 30	Основная группа n = 100	p
<b>ШЕЙКА</b>			
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 шейки сперматозоида	0(0%*)	2(2%)	p > 0,05
Нарушение формирования структур шейки	0(0%)	0(*)	p > 0,05
<b>АКСОНЕМА</b>			
Отсутствие или избыточность структур аксонемы	0(0%)	0(*)	p > 0,05

Примечание: \*единичные сперматозоиды с указанным признаком



В результате выполненной работы выявлено, что у пациентов обеих групп преобладает типичная ультраструктура шеек и аксонемы сперматозоидов. Количество сперматозоидов с патологическими изменениями ультраструктур шеек и аксонемы настолько мало в основной группе и они так редко были обнаружены, что их вклад в развитие астенозооспермии можно не учитывать.

*Ультраструктура среднего отдела жгутиков сперматозоидов.* У пациентов в основной группе изменения ультраструктур среднего отдела жгутика сперматозоида выявлены у всех пациентов. В 60 случаях (60%) обнаружены изменения со стороны митохондрий. Чаще всего обнаруживали набухание митохондрий - 52 случая (52%), при этом во всех случаях ультраструктура аксонемы не нарушена (рисунок 32). В 46 случаях (46%) набухание митохондрий сочеталось с деструкцией крист (рисунок 32). В четырех случаях (4%) выявлены сперматозоиды у которых деструкция крист не сопровождалась набуханием митохондрий (рисунок 33).

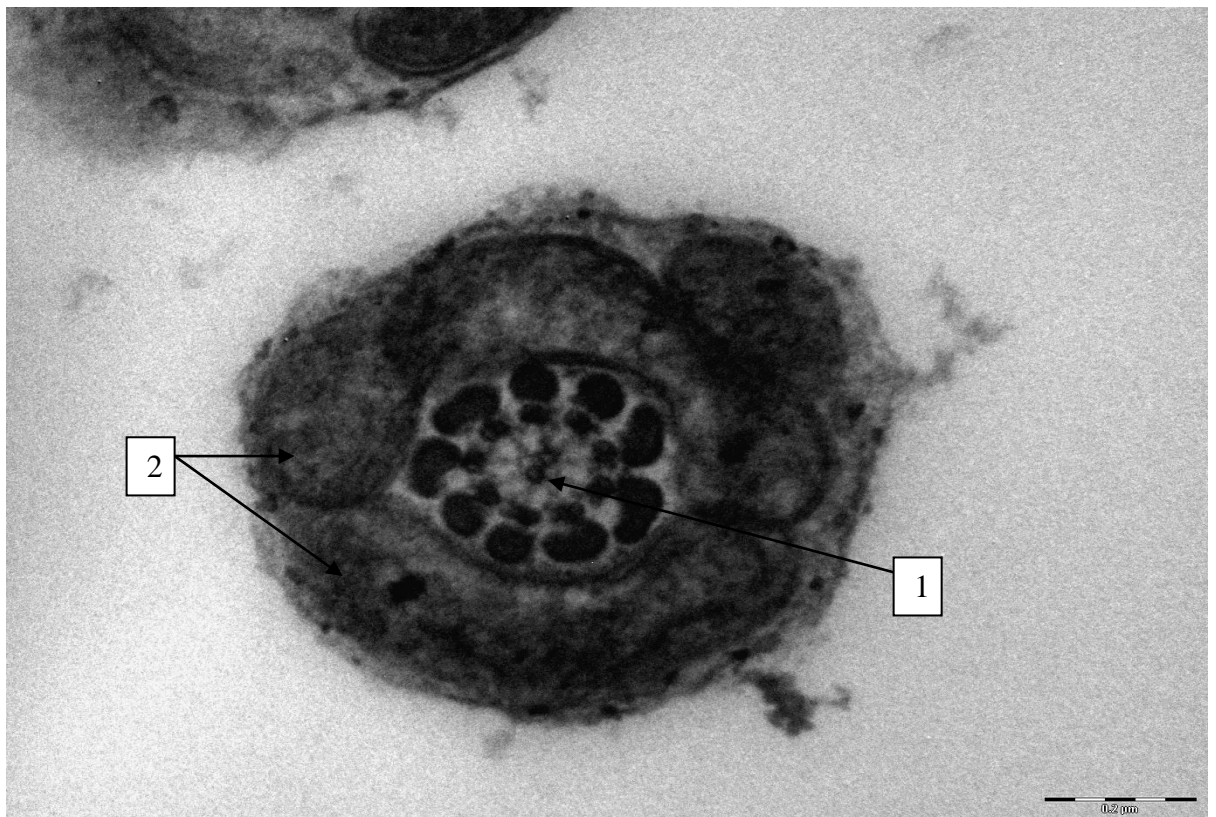


Рисунок 32 - Поперечный срез через средний отдел жгутика

Примечание: 1- типичная ультраструктура аксонемы; 2 – набухание митохондрий, деструкция крист. х 56 000

У восьми пациентов (8%) выявлены изменения митохондрий несколько другого характера. При нормальной спиральной упаковке митохондрий они были пикнотичны и осмифильны (рисунок 34).

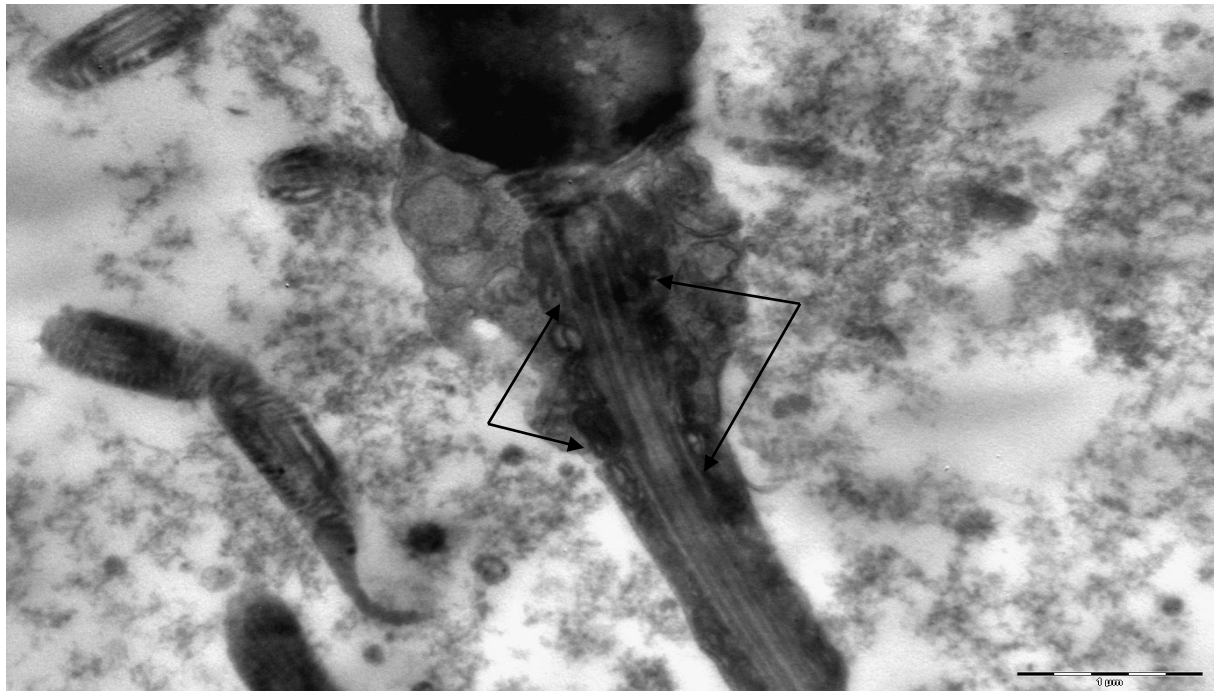


Рисунок 33 - Выраженная деструкция крист и митохондрий  
Примечание: показано стрелками. x 14 000

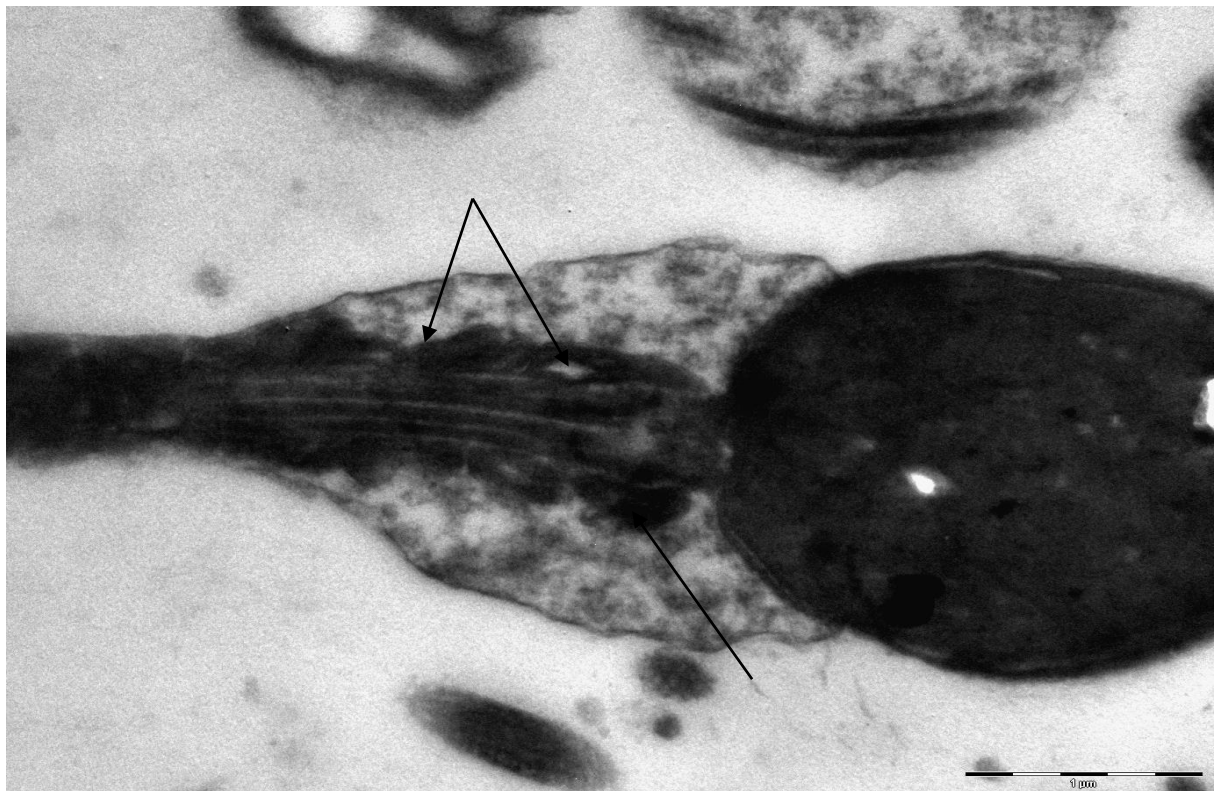


Рисунок 34 - Продольный срез через средний отдел жгутика  
Примечание: 1- ненарушенная спиральная упаковка митохондрий;  
2 – пикноз и осмиофилия митохондрий. x 18 000

В некоторых случаях пикноз митохондрий был настолько выраженным вплоть до резкого уменьшения размеров митохондрий и их деструкции (рисунок 35).

В 16 случаях (16%) обнаружено нарушение спиральной упаковки митохондрий, от незначительной (рисунок 36) до полностью неупорядоченного их расположения вокруг аксонемы (рисунок 37).

В 14 случаях (14%) зафиксировано сочетание изменения митохондрий с наличием гиперплазированной ядерной мембраны. Отмечено смещение избыточной мембраной структур жгутика, в котором митохондрии были набухшие, кристы не просматривались (рисунок 38).

У 18 пациентов (18%) выявлена тяжелая деструкция крист с просветлением митохондриального матрикса (рисунок 39), вплоть до полного опустошения митохондрий (рисунок 40).

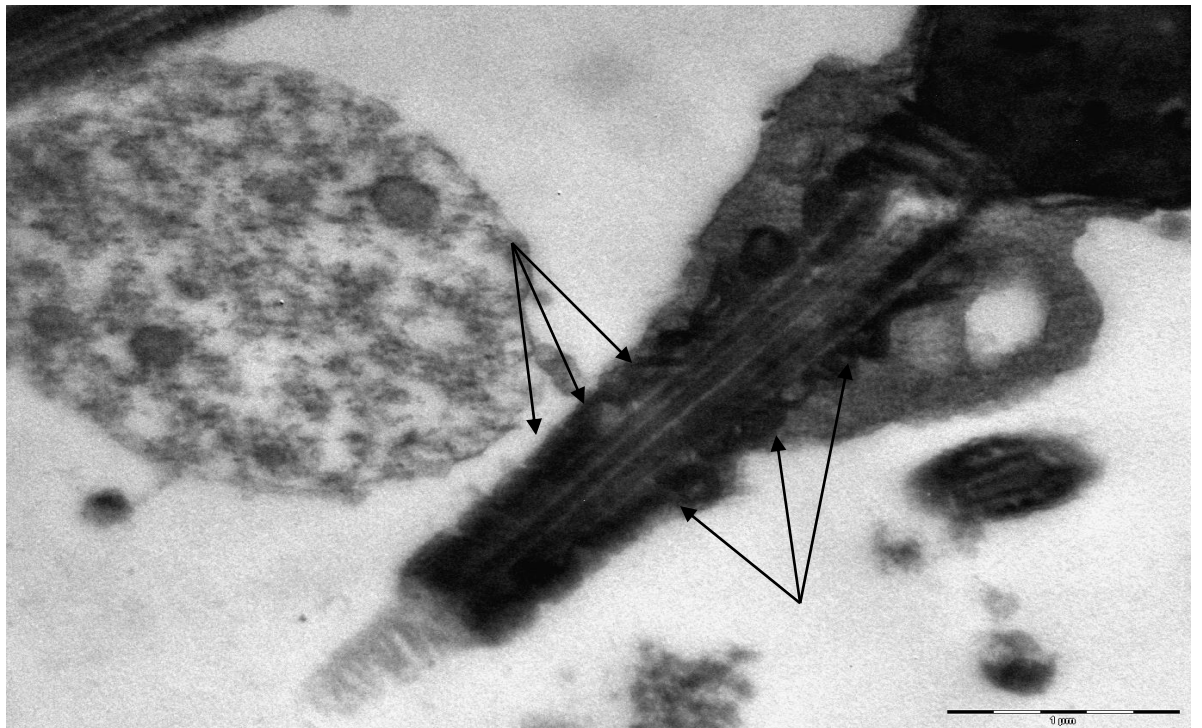


Рисунок 35 - Продольный срез через средний отдел жгутика

*Примечание:* выраженная деструкция уплотненных нормально расположенных митохондрий(показано стрелками). x 18 000

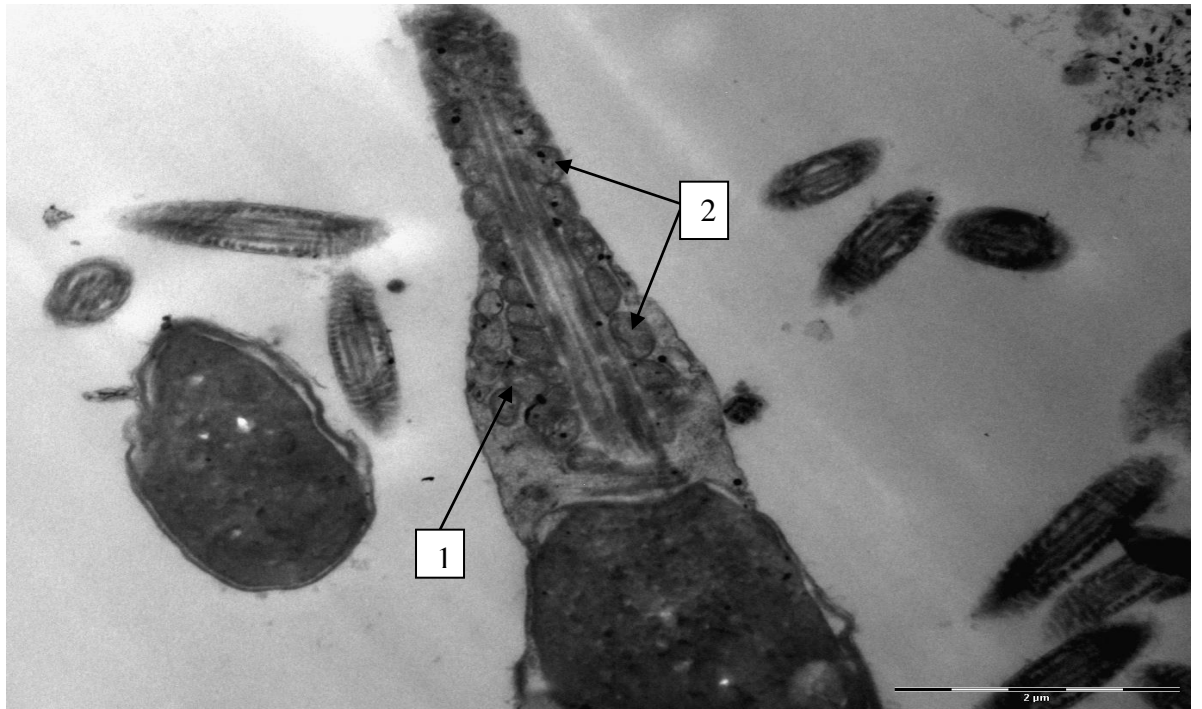


Рисунок 36 - Продольный срез через средний отдел жгутика  
 Примечание: 1 - нарушение спиральной упаковки митохондрий;  
 2 - деструкция крист. x 11 000

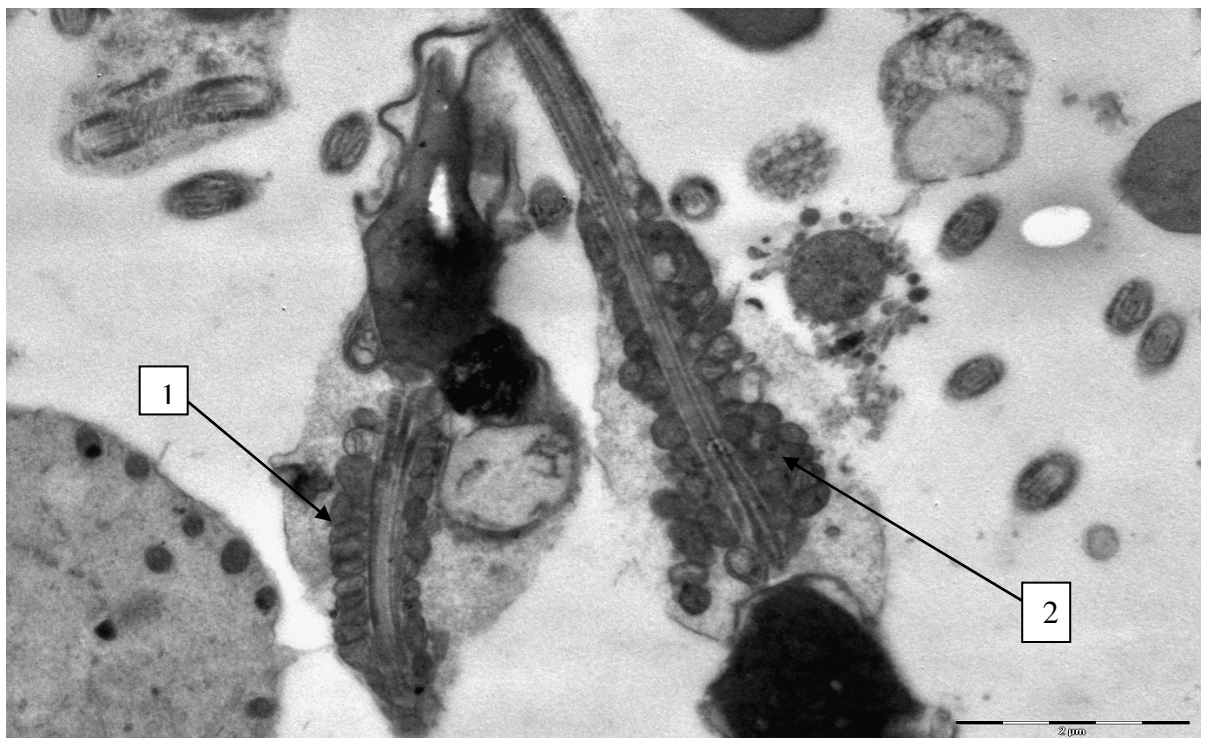


Рисунок 37 - Продольный срез через средний отдел жгутиков  
 Примечание: 1 - спиральная упаковка митохондрий не нарушена; 2 - неупорядоченное расположение вокруг аксонемы митохондрий с деструкцией крист. x 8900

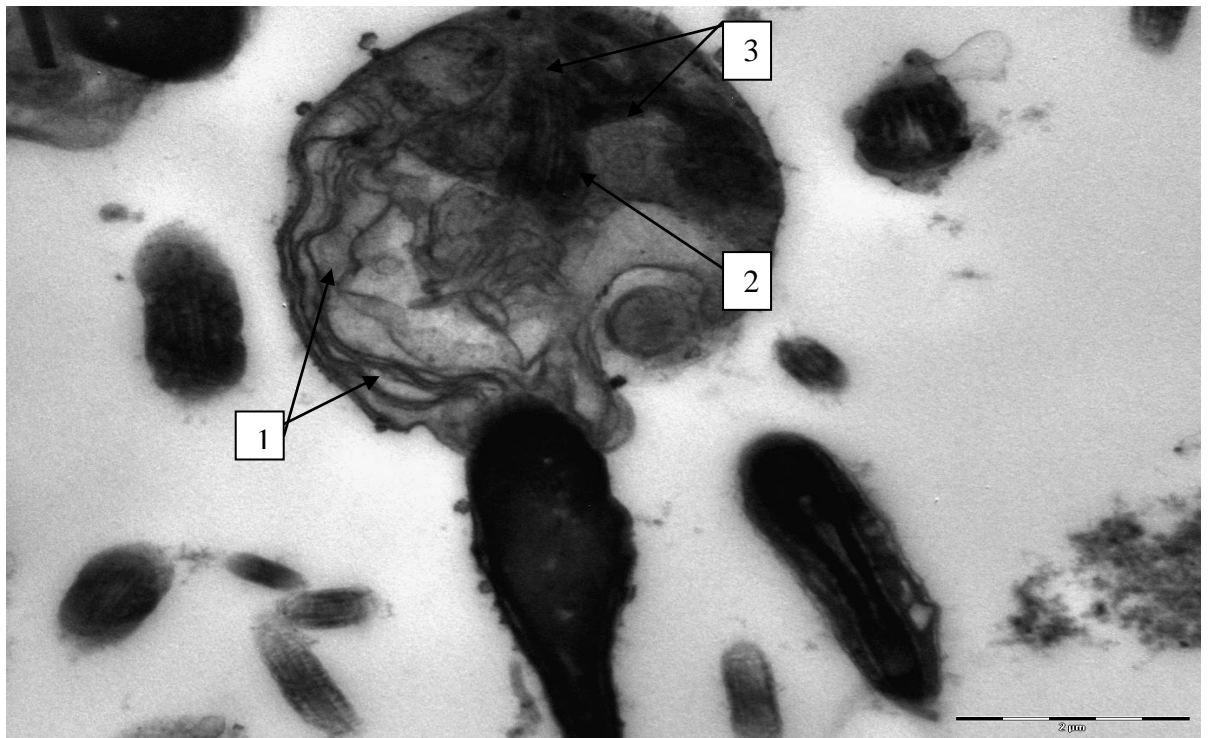


Рисунок 38 - Цитоплазматическая капля в среднем отделе жгутика  
 Примечание: 1 - гиперплазированная ядерная мембрана; 2 - смещение структур жгутика;  
 3 - деструкция митохондрий. x 8900



Рисунок 39 - Продольный срез через средний отдел жгутика  
 Примечание: 1 - нарушение спиральной упаковки при набухании митохондрий; 2 - уплотнение и деструкция крист с просветлением митохондриального матрикса. x 14 000



Рисунок 40 - Продольный срез через средние отделы жгутиков  
*Примечание:* 1 - ненарушенная спиральная упаковка митохондрий; 2 - выраженная деструкция крист с опустошением митохондрий. x 14 000

Такие изменения в некоторых случаях сопровождались нарушением спиральной упаковки митохондрий (рисунок 39), а в некоторых случаях спиральная упаковка митохондрий оставалась сохранной (рисунок 40). В 12 случаях (12%) отмечено преобладание сперматозоидов, имеющих в области среднего отдела жгутика цитоплазматическую каплю, содержащую гиперплазированную ядерную мембрану. Наличие гиперплазированной ядерной мембраны обычно указывает на нарушение дифференцировки сперматозоидов. Степень выраженности изменений ультраструктур сперматозоида в этих случаях была различной. В ряде случаев, помимо гиперплазированной ядерной мембраны, другие органеллы имели типичную ультраструктуру (рисунок 41).



Рисунок 41 - Гиперплазированная ядерная мембрана между головкой и правильно сформированными шейкой и жгутиком сперматозоида при нарушении его дифференцировки  
*Примечание:* показано стрелками. x 14 000

В других случаях при наличии гиперплазированной ядерной мембраны жгутик был лишь частично сформирован (рисунок 42), либо не сформирован вообще (рисунок 43). Нарушения дифференцировки сперматозоидов обнаружены у 10 человек (10%). Они проявлялись либо нарушением формирования органелл сперматозоидов (рисунки 44, 45), либо образованием сперматозоидов с множественными ультраструктурными пороками (рисунки 46, 47).

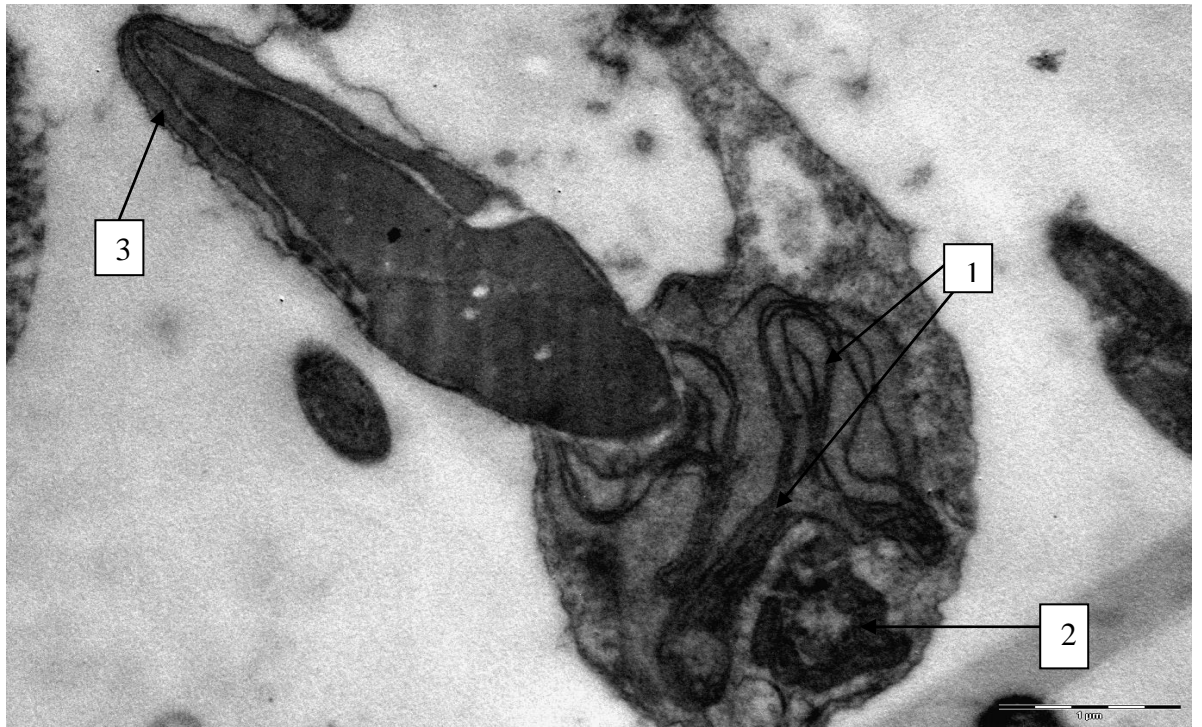


Рисунок 42 - Нарушение дифференцировки сперматозоида  
*Примечание:* 1- гиперплазированная ядерная мембрана; 2 - кольцевидное скопление митохондрий; 3 - акросома в состоянии набухания. х 14 000

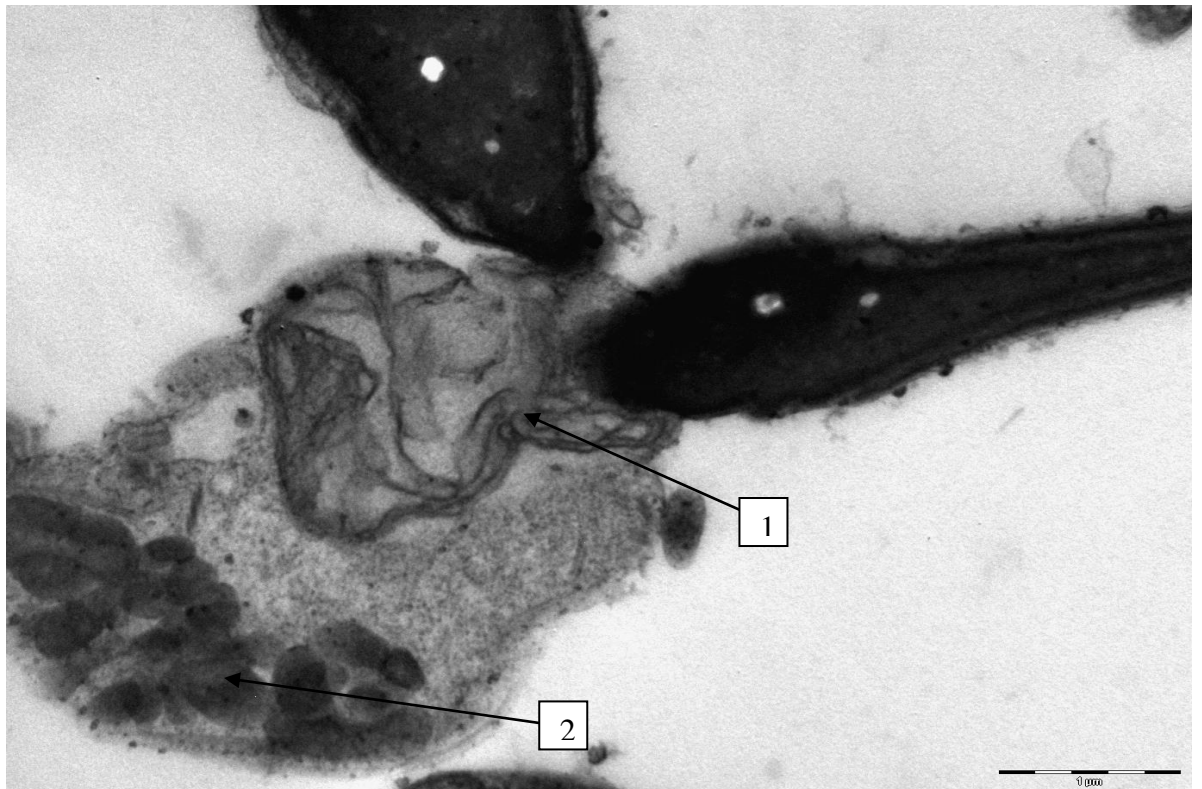


Рисунок 43 - Нарушение дифференцировки сперматозоида  
*Примечание:* 1 - гиперплазированная ядерная мембрана; 2 - скопление набухших митохондрий гомогенного вида. х 14 000



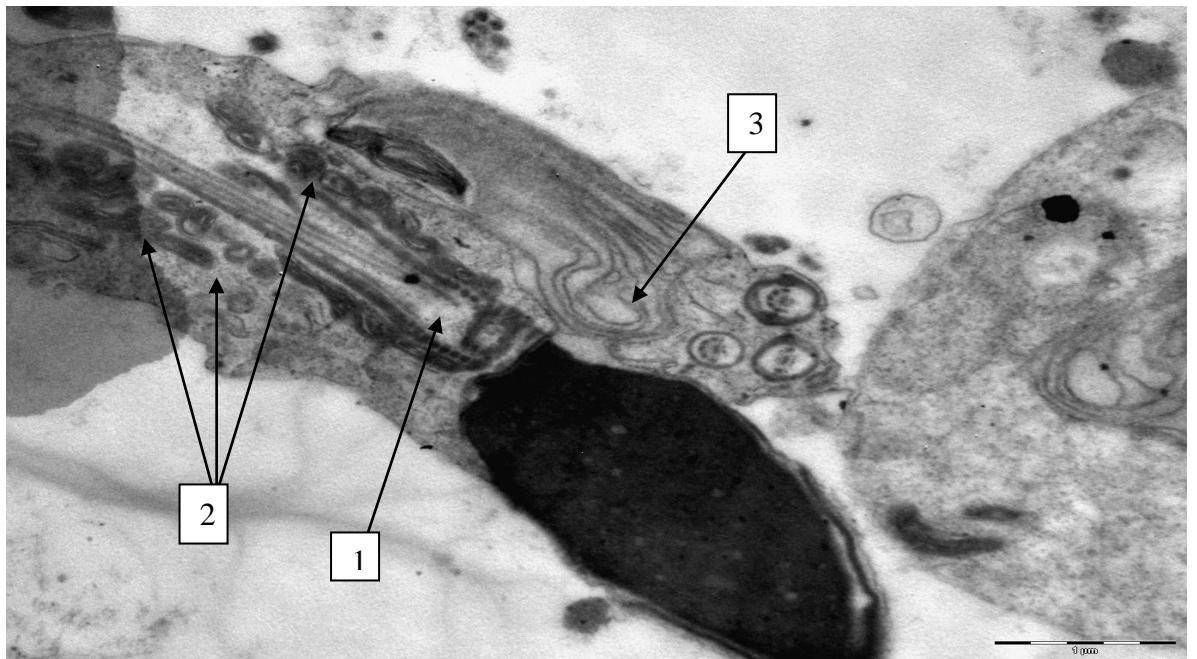


Рисунок 44 - Цитоплазматическая капля при нарушении дифференцировки сперматозоида

*Примечание:* 1 – жгутик с просветленной аксонемой; 2- смещение митохондрий с деструкцией крист; 3 – гиперплазированная ядерная мембрана. x 14 000

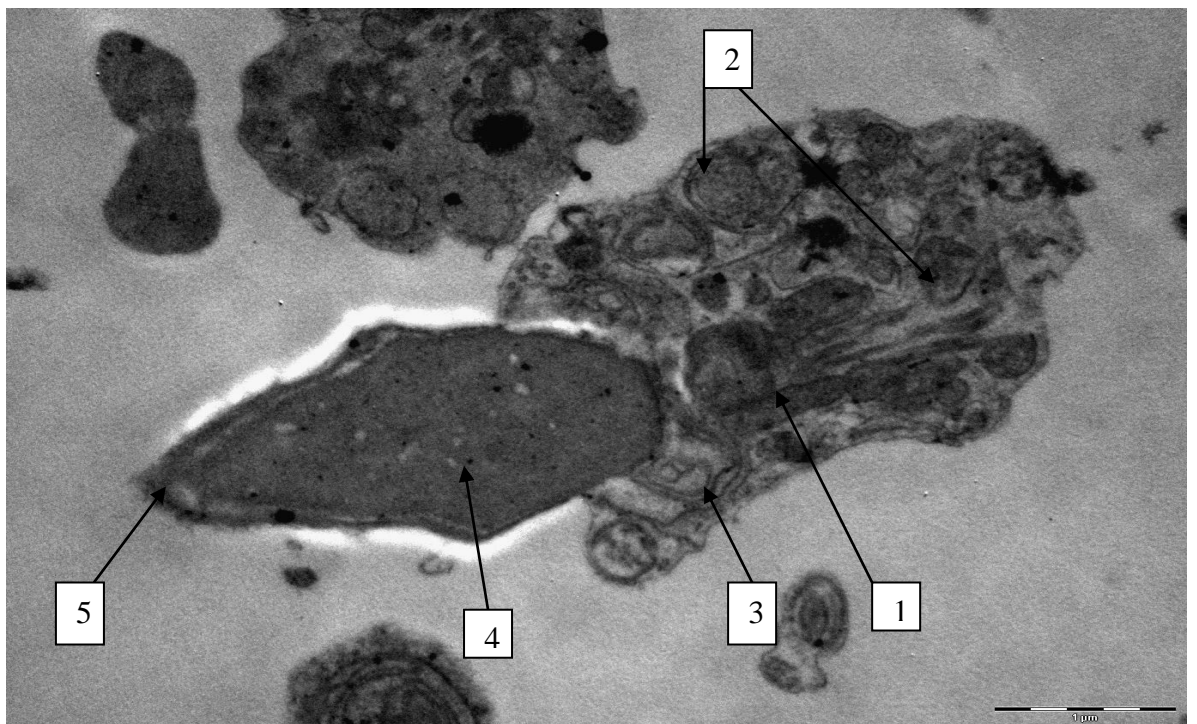


Рисунок 45 - Цитоплазматическая капля при нарушении дифференцировки жгутика

*Примечание:* 1 – фрагменты жгутика; 2 - вакуоли; 3 – гиперплазированная ядерная мембрана; 4 – зернистый хроматин; 5 – деструкция акросомы. x 14 000

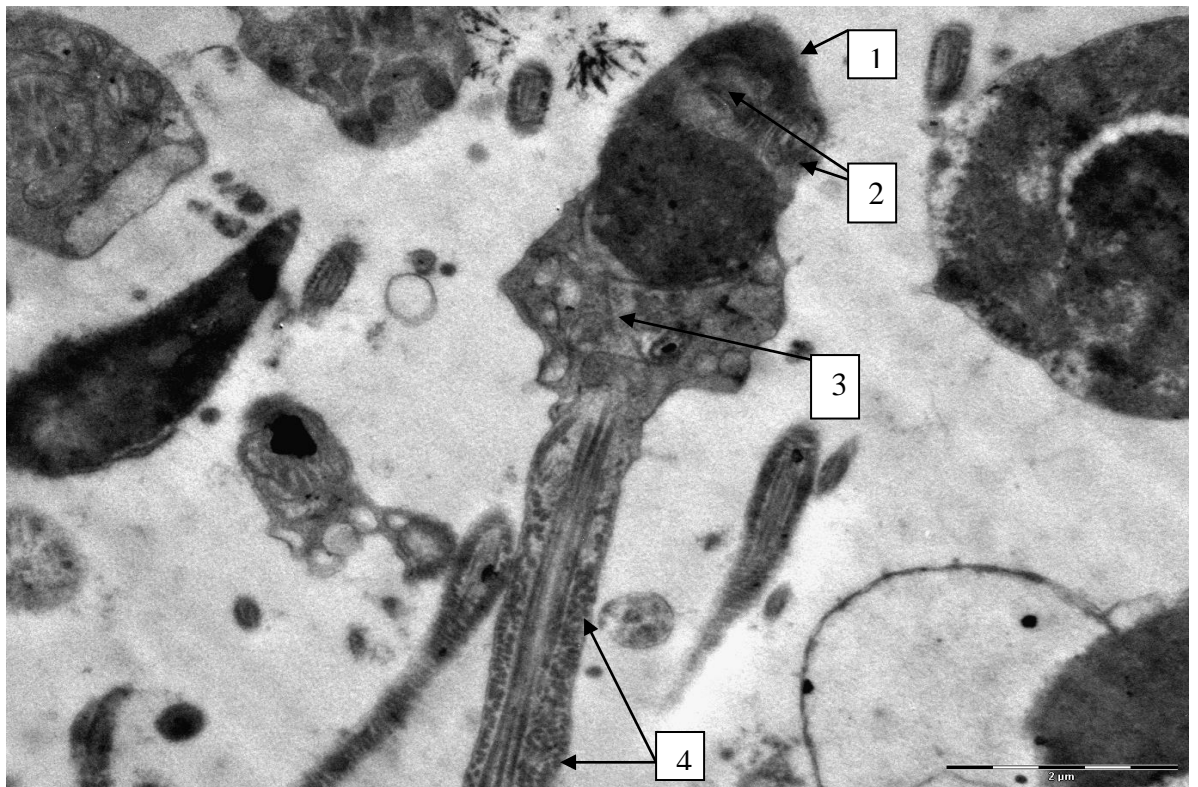


Рисунок 46 - Множественные ультраструктурные пороки сперматозоида  
 Примечание: 1 - агенезия акросомы; 2 - вакуолизация хроматина; 3 - отсутствие шейки и среднего отдела жгутика; 4 - гиперплазия фибрилл фиброзного слоя. x 8900

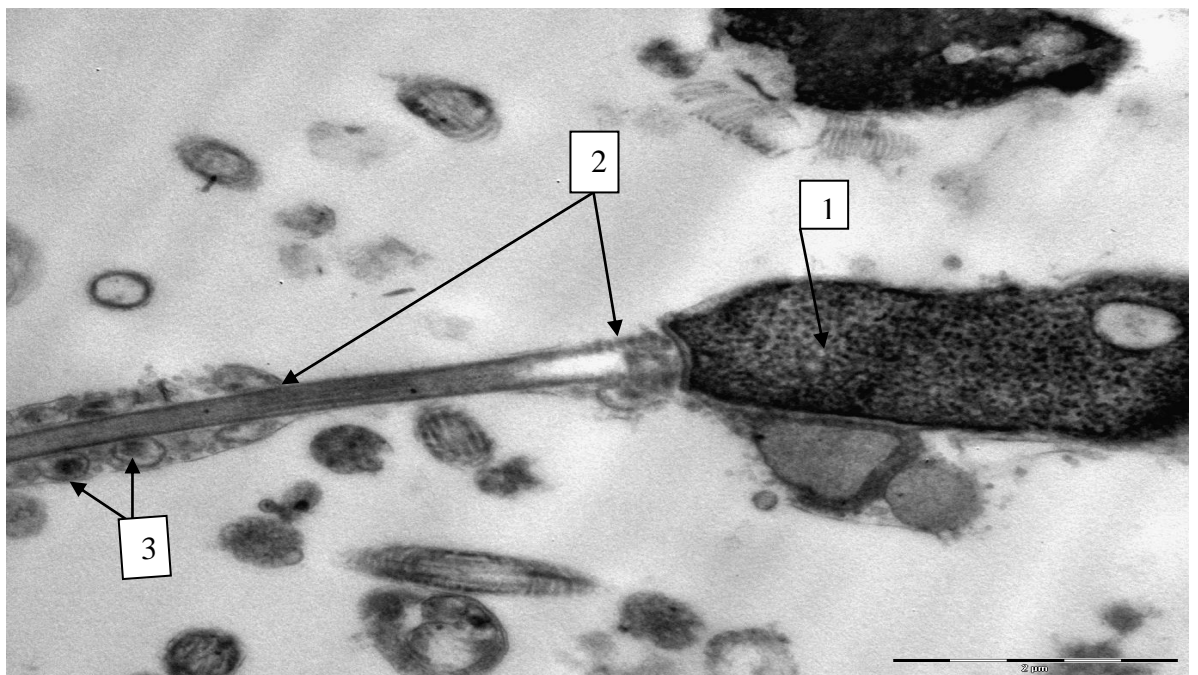


Рисунок 47 - Множественные ультраструктурные пороки сперматозоида  
 Примечание: 1 - грубогранулярный хроматин; 2 - смещение митохондрий; 3- деструкция крист митохондрий и просветление митохондриального матрикса.  
 x 11 000

Данные электронно-микроскопического исследования среднего отдела жгутиков сперматозоидов представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Данные электронно-микроскопического исследования среднего отдела жгутиков

ЭМИС	Группа сравнения n = 30	Основная группа n = 100	p
<b>СРЕДНИЙ ОТДЕЛ ЖГУТИКА</b>			
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

*Примечание:* \*единичные сперматозоиды с указанным признаком

Результаты проведенного исследования показывают, что изменения структур среднего отдела жгутика выявляются в обеих группах обследованных пациентов, но в группе сравнения они встречаются в единичных клетках, что не влияет на подвижность основной массы сперматозоидов. В основной группе нарушения митохондрий, деструкция крист, наличие гиперплазированной ядерной мембраны, нарушения дифференцировки указанного отдела жгутика выявляются достоверно чаще и представляют большую группу ультраструктурной патологии сперматозоидов.

*Ультраструктура основного отдела жгутика.* У всех обследованных пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов основной отдел жгутика на поперечных и продольных срезах имел типичную ультраструктуру (рисунок 6). Выявлены единичные сперматозоиды с измененной структурой фиброзной оболочки. Всего отмечено два варианта таких изменений. В одном варианте видно неупорядоченное расположение волокон фиброзной оболочки основного отдела жгутика сперматозоида (рисунок 48). Другой вариант был представлен жгутиками с гиперплазией волокон фиброзной оболочки (рисунок 49). Количество сперматозоидов с такими ультраструктурными дефектами было настолько мало, и встречались они не в каждом случае, что не могло привести к нарушению подвижности сперматозоидов.

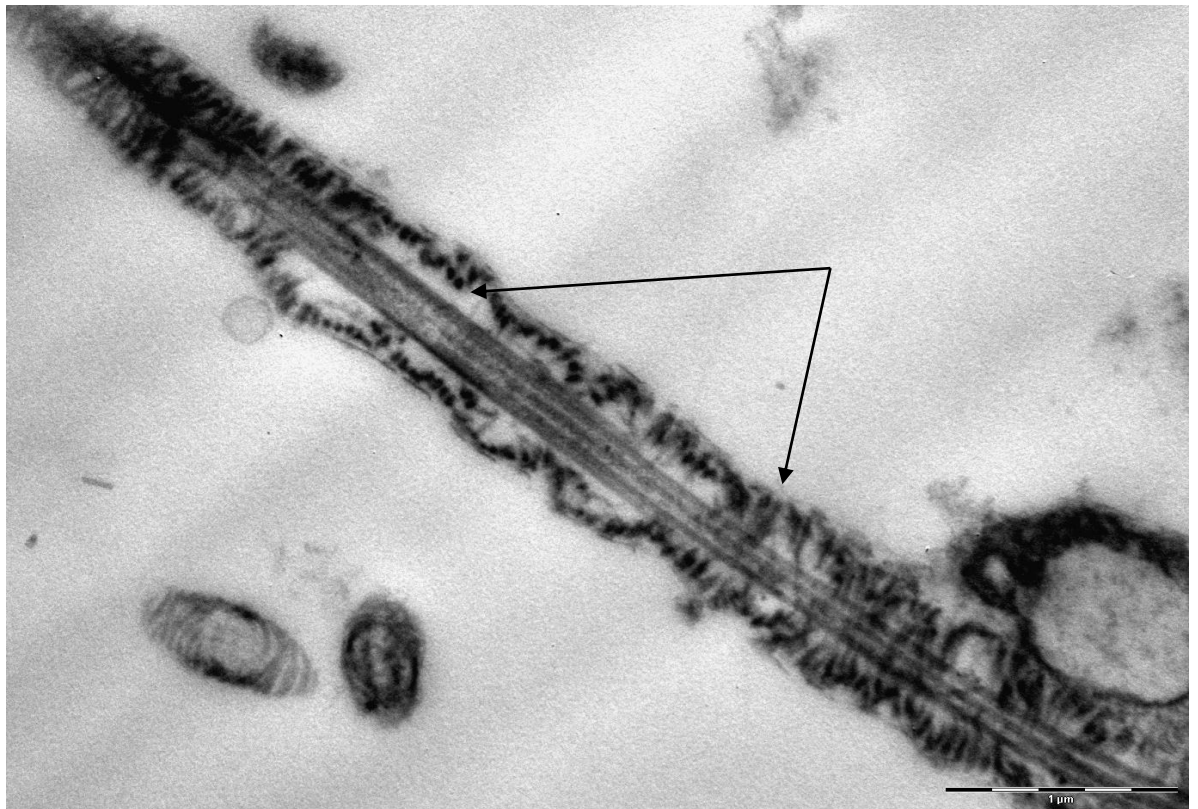


Рисунок 48 - Неупорядоченное расположение фиброзных волокон в основном отделе жгутика

Примечание: показано стрелками. x 14 000

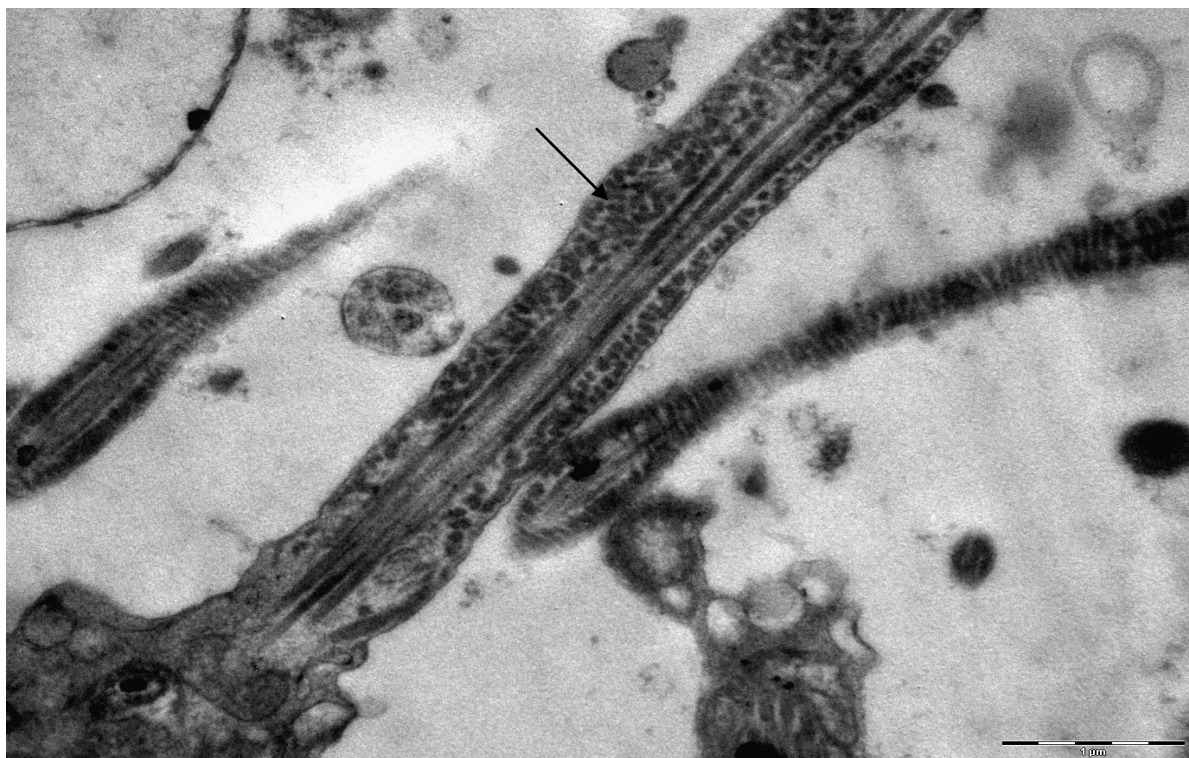


Рисунок 49 - Гиперплазия волокон фиброзной оболочки основного отдела жгутика

*Примечание:* показано стрелкой. x 14 000

*Бактериоспермия.* При проведении ЭМИС бактерии в эякуляте обнаружены у 34 пациентов (34%) основной группы. Выраженность бактериоспермии варьировала от небольшого количества отдельно расположенных бактерий до их массивных скоплений (рисунок 50).

Бактерии были обнаружены на фрагментах эпителиальных клеток (рисунки 51,52), адгезированные на тяжах слизи (рисунок 53), замурованные в слепках канальцев (рисунок 54), фагоцитированные макрофагами (рисунок 55).

Нередко наряду с бактериофагами были обнаружены спермиофаги (рисунок 56).

Все случаи бактериоспермии сопровождалась наличием сегментоядерных нейтрофилов в эякуляте (рисунок 57).

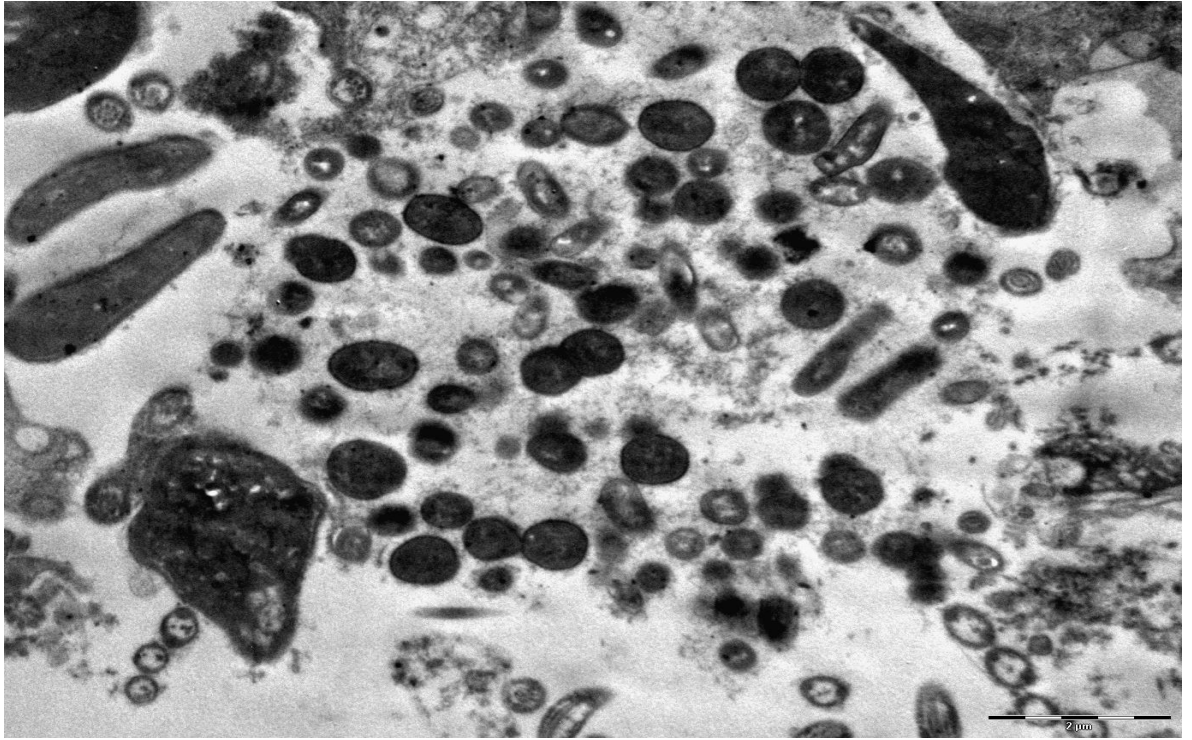


Рисунок 50 - Бактериоспермия  
*Примечание:* колония бактерий в эякуляте. x 7100

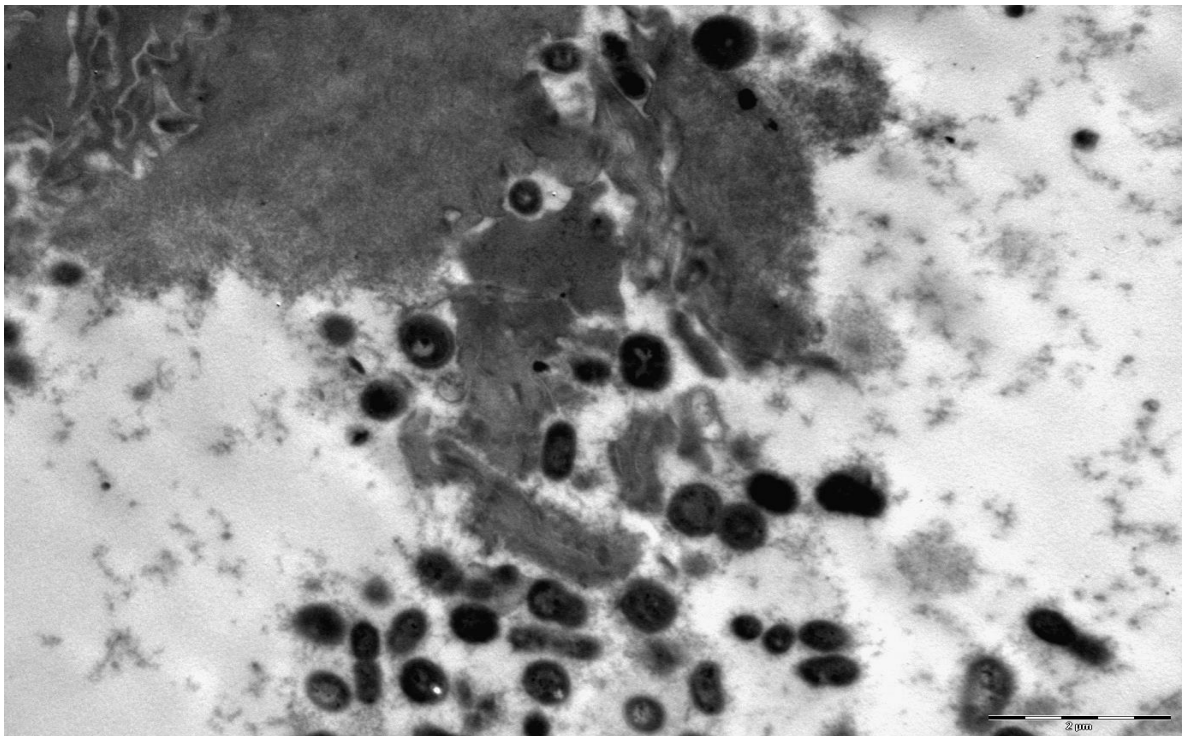


Рисунок 51 - Бактериоспермия  
*Примечание:* адгезия бактерий на эпителиальной клетке. x 7100



Рисунок 52 - Бактериоспермия

*Примечание:* адгезия бактерий на эпителиальной клетке. х 5600

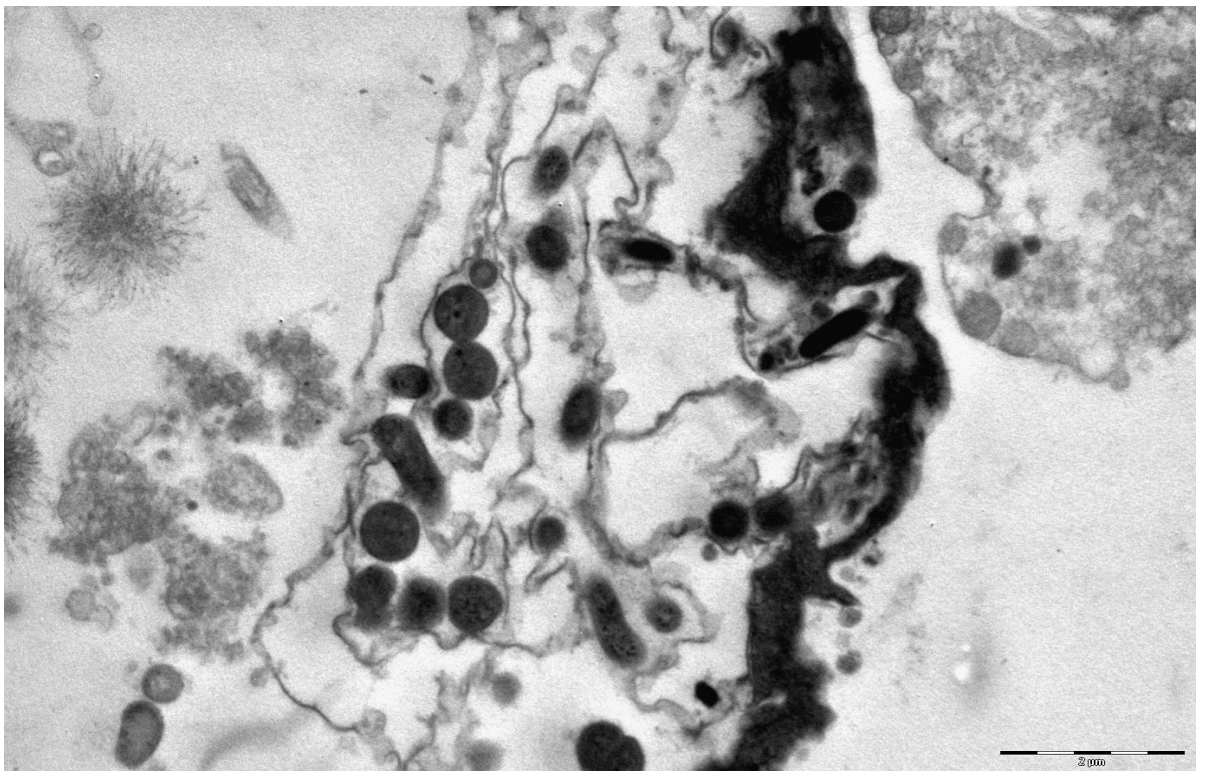


Рисунок 53 - Бактериоспермия

*Примечание:* адгезия бактерий на тяжах слизи. х 7100

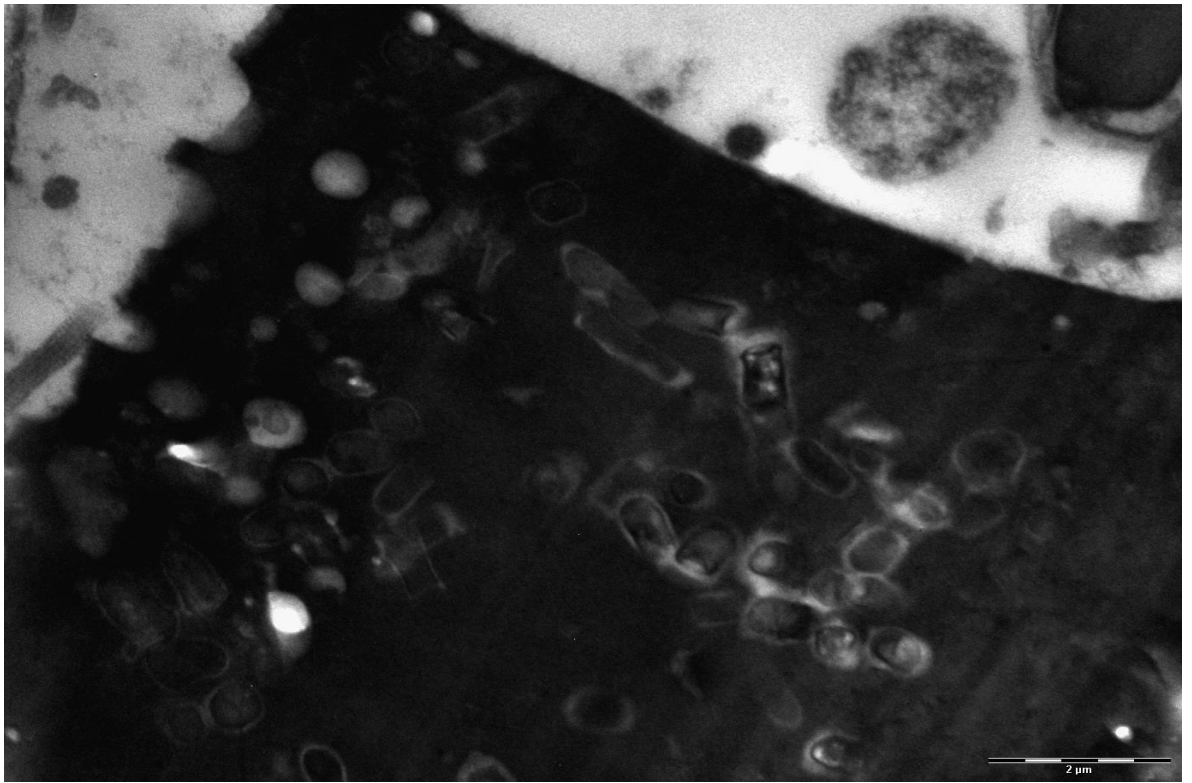


Рисунок 54 - Бактериоспермия  
*Примечание:* бактерии в слепке канальца. х 7100

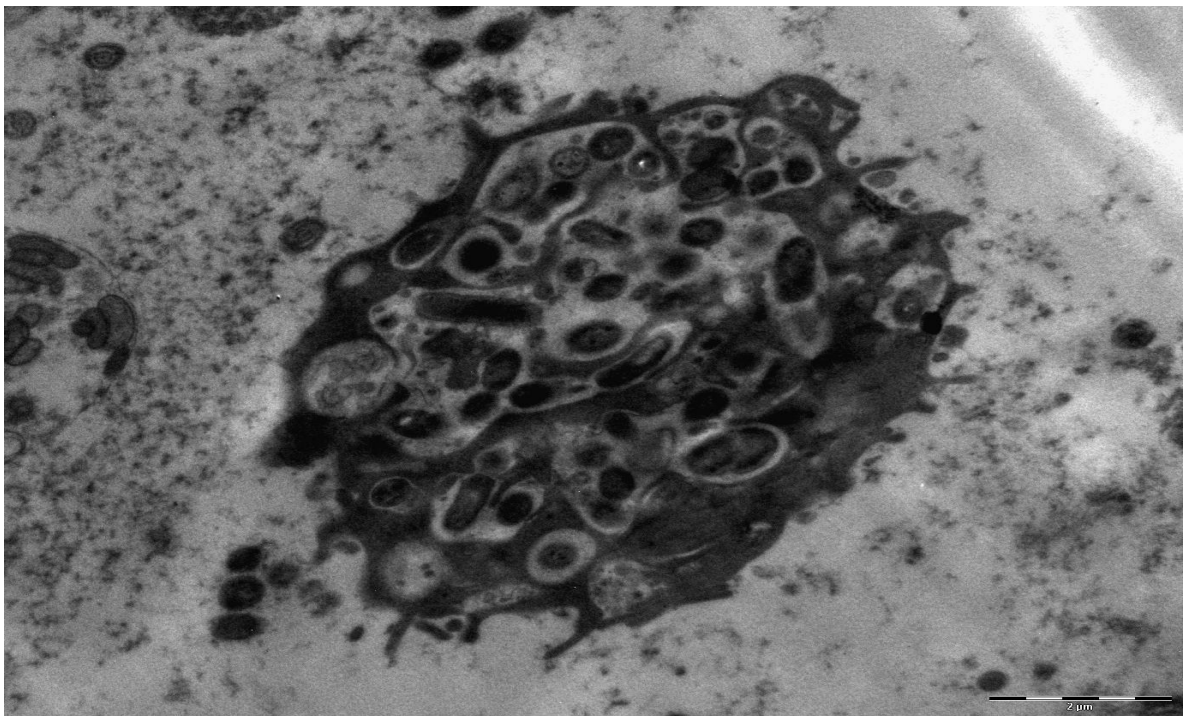


Рисунок 55 - Бактериоспермия  
*Примечание:* бактериофаг. х 7100



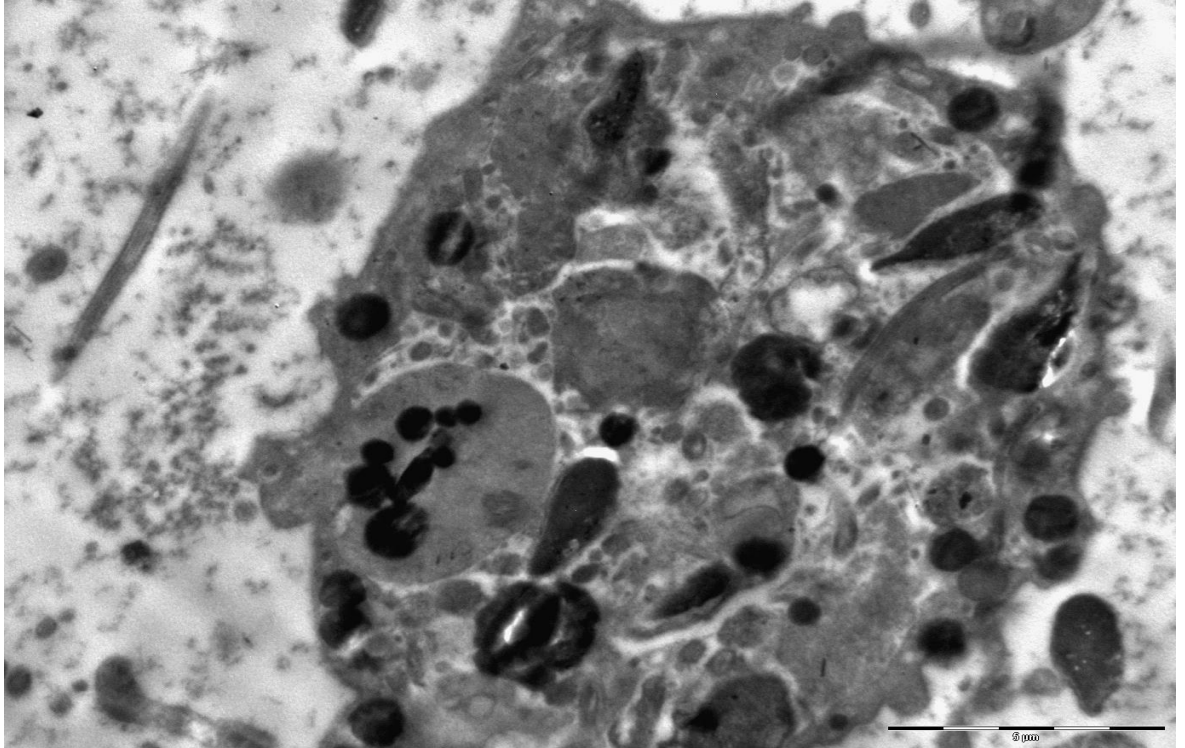


Рисунок 56 - Спермиофаг  
Примечание: x 4400

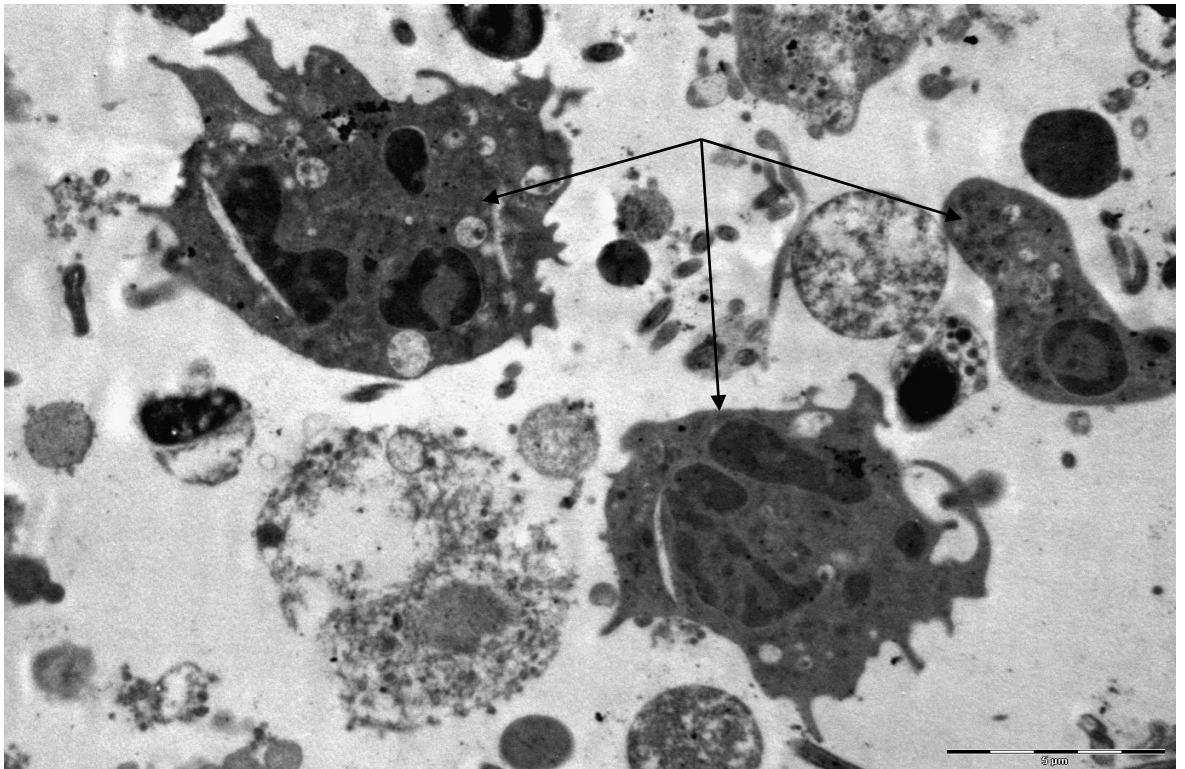


Рисунок 57 - Пиоспермия  
Примечание: сегментоядерные нейтрофилы (показано стрелками). x 3500

Следует отметить, что в 24 случаях (24%) бактериоспермия выявлена только при нарушении подвижности сперматозоидов, а остальные 10 (10%) были установлены в случаях сочетания астенозооспермии с олигозооспермией. В случаях бактериоспермии отмечены самые тяжелые повреждения митохондрий, вплоть до их полной деструкции (рисунок 40) и они всегда сочетались с вакуолизацией и гранулярностью хроматина, (рисунок 15), изменением структуры акросомы (рисунки 17, 18, 19, 20) деструкцией хроматина (рисунок 58). В ультраструктуре аксонемы, центриолей, шеек сперматозоидов при бактериоспермии изменений выявлено не было. Нарушения дифференцировки при бактериоспермии чаще всего проявлялись образованием сперматозоидов со сдвоенными жгутиками (рисунок 59) или сдвоенными головками (рисунок 60).

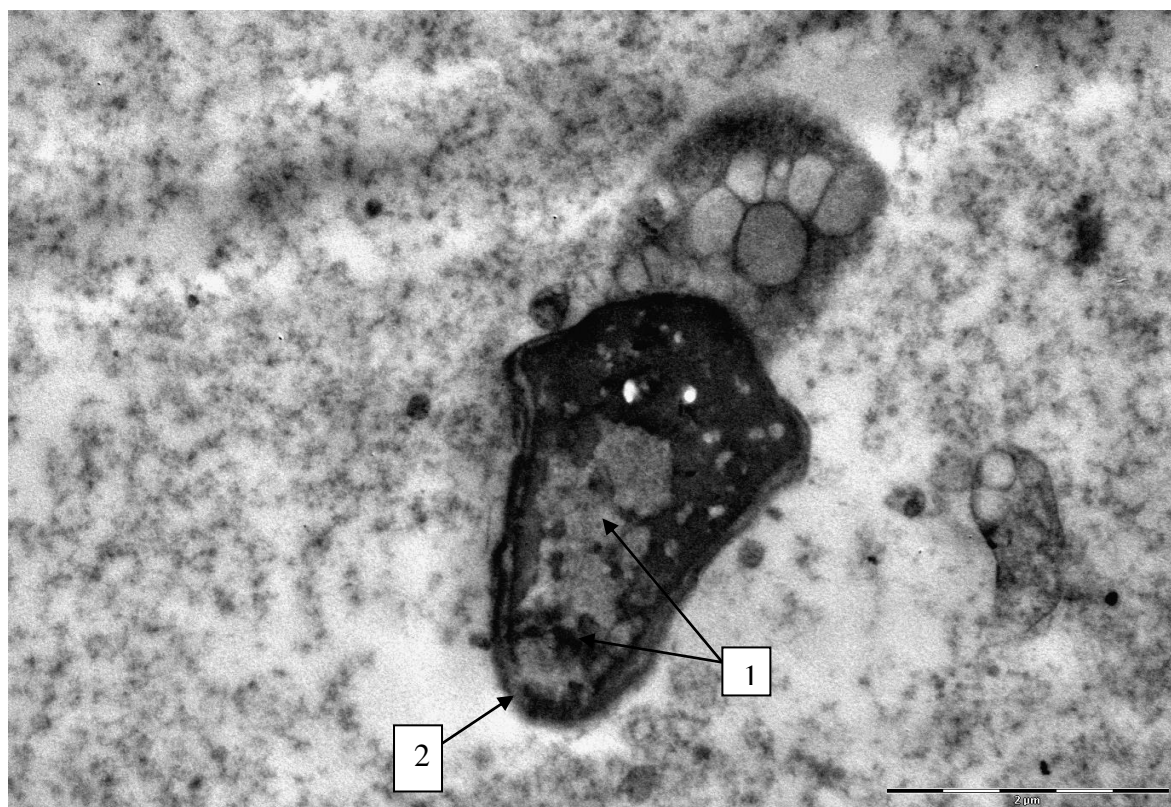


Рисунок 58 - Головка сперматозоида  
*Примечание: 1- деструкция хроматина; 2- деградация акросомы. x 11 000*

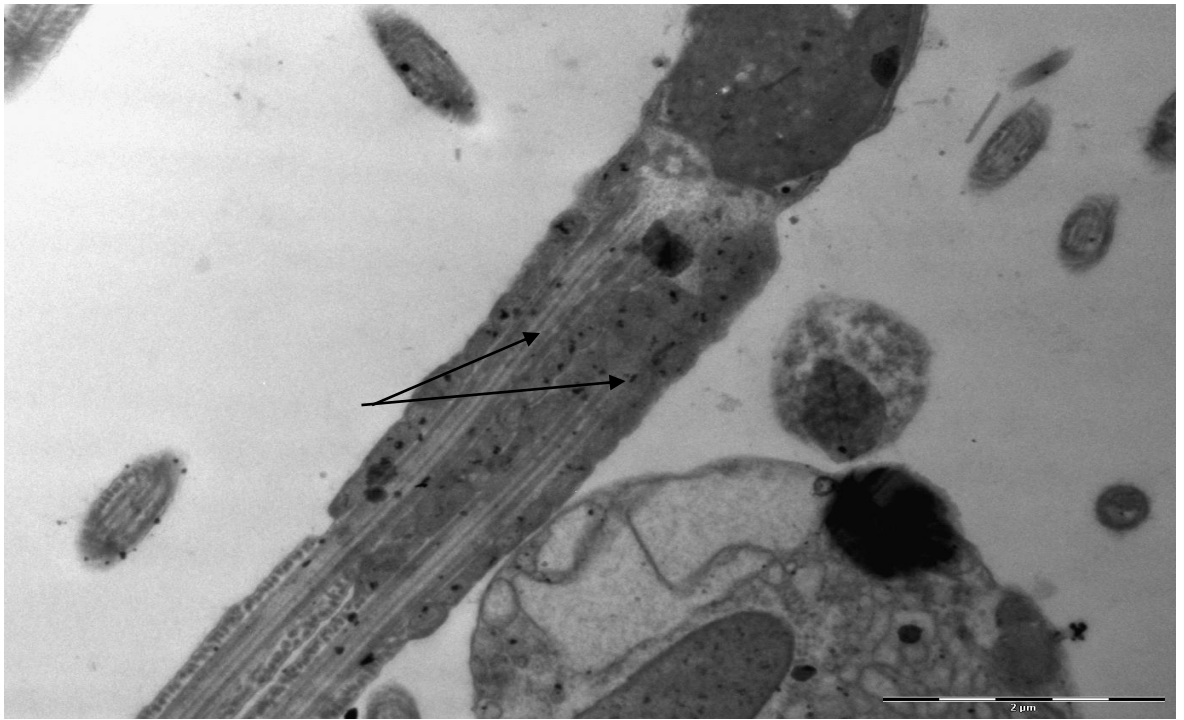


Рисунок 59 - Формирование сдвоенного жгутика при нарушении дифференцировки сперматозоида  
*Примечание:* показано стрелками. x 11 000

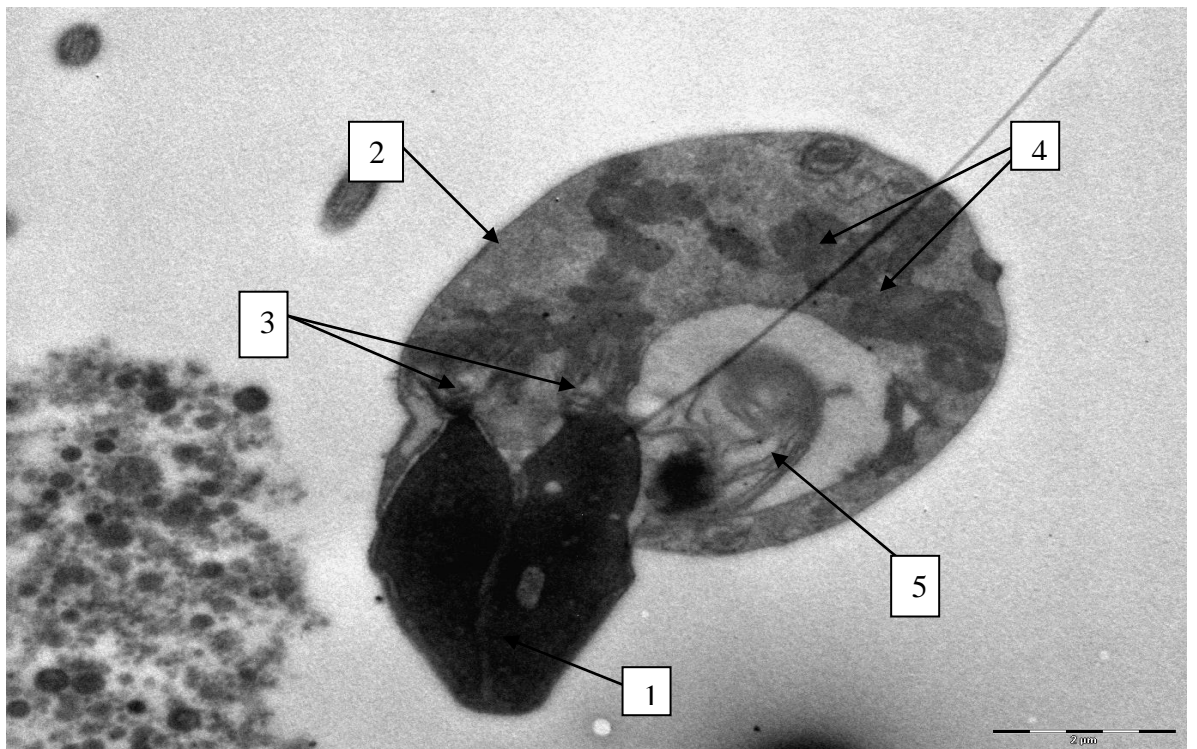


Рисунок 60 - Нарушение дифференцировки сперматозоидов  
*Примечание:* 1 - сдвоенные головки с гранулярным хроматином; 2 - общая цитоплазматическая капля; 3 - ультраструктуры шеек и жгутиков не сформированы; 4 - неупорядоченное расположение митохондрий; 5 - гиперплазированная ядерная мембрана. x 7100

Данные электронно-микроскопического исследования основного отдела жгутиков сперматозоидов представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Данные электронно-микроскопического исследования основного отдела жгутиков сперматозоидов

ЭМИС	Группа сравнения n = 30	Основная группа n = 100	p
<b>ОСНОВНОЙ ОТДЕЛ ЖГУТИКА</b>			
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
<b>БАКТЕРИОСПЕРМИЯ</b>			
Бактериоспермия	0(0%)	34(34%)	p < 0,001
Лейкоциты	0(0%)	68(68%)	p < 0,001
Сдвоенные жгутики и головки сперматозоидов	0(0%)	64(64%)*	p < 0,001

*Примечание:* \*единичные сперматозоиды с указанным признаком

У пациентов в группе сравнения не обнаружены сперматозоиды с изменениями структуры основного отдела жгутика, а в основной группе обследованных такие изменения выявлены в единичных сперматозоидах. На основании полученных данных можно предположить, что изменение фиброзной оболочки жгутика не влияет на развитие астенозооспермии. Бактериоспермия выявлена только у пациентов основной группы. При бактериоспермии патологические изменения сперматозоидов выявлены и в структуре хроматина, акросомы, а наиболее тяжелые изменения обнаружены в структуре митохондрий. Существенных изменений в структуре шеек, аксонемы, фиброзного слоя не установлено. Кроме того, при бактериоспермии диагностировано нарушение дифференцировки сперматозоидов – наличие сдвоенных жгутиков и головок.

Таким образом, суммируя данные этого раздела, установлено, что при астенозооспермии из структур, ответственных за подвижность сперматозоидов, наиболее часто патологические изменения выявлены в среднем отделе жгутика (изменения митохондрий, наличие гиперплазированной ядерной мембраны, нарушение дифференцировки).

Остальные структуры, обеспечивающие движение сперматозоидов (шейка, аксонема) являются достаточно стабильными. Кроме того, у сперматозоидов с нарушением подвижности обнаружены повреждения хроматина и акросомы. Случаи бактериоспермии диагностированы у обследуемых с астенозооспермией и во всех случаях зарегистрированы тяжелые ультраструктурные изменения сперматозоидов.

Метод ЭМИС не позволяет установить бактериальный морфотип и титр бактерий.

### **3.3 Диагностика урогенитальных инфекций**

#### **3.3.1 Результаты бактериологического исследования эякулята**

При бактериологическом исследовании эякулята пациентов группы сравнения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в урогенитальном тракте не выявлено.

Методом бактериологического посева эякулята пациентов основной группы, установлен следующий спектр микробной флоры: *E. coli* обнаружена в четырех случаях (4%), *Enterococcus faecalis* обнаружен в четырех случаях (4%), *Streptococcus agalactiae* обнаружен в двух случаях (2%), *Klebsiella oxytoca* обнаружена в одном случае (1%), сочетание *E. Coli* и *Staphylococcus saprophyticus* обнаружено в двух случаях (2%) и сочетание *E. Coli* обнаружено в четырех случаях (4%). Всего бактериологическим методом выявлено 17 случаев (17%) бактериоспермии.

Данные бактериологического исследования эякулята представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Видовая идентификация и частота встречаемости бактериальных морфотипов в эякуляте

Бактериальный морфотип, титр (КОЕ/мл)	Частота встречаемости (количество случаев) в группе сравнения n = 30	Частота встречаемости (количество случаев) в основной группе n = 100
<i>E. coli</i> , 10 <sup>2</sup>	0(0%)	4(4%)
<i>E. coli</i> , 10 <sup>2</sup> / <i>Enterococcus faecalis</i> , 10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>	0(0%)	4(4%)
<i>E. coli</i> , 10 <sup>2</sup> / <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , 10 <sup>2</sup>	0(0%)	2(2%)
<i>Klebsiella oxytoca</i> , 10 <sup>3</sup>	0(0%)	1(1%)
<i>Enterococcus faecalis</i> , 10 <sup>2</sup>	0(0%)	4(4%)
<i>Streptococcus agalactiae</i> , 10 <sup>4</sup>	0(0%)	2(2%)
Всего	0(0%)	17(17%)

В урогенитальном тракте мужчин с нарушением подвижности сперматозоидов диагностирована условно-патогенная микрофлора. Наиболее распространенными морфотипами оказались *E. coli* и *Enterococcus faecalis*, поскольку на их долю в совокупности приходится 12 случаев (12%) бактериоспермии, установленной бактериологическим методом. Титр бактерий невысокий и составил, в среднем 10<sup>2</sup> - 10<sup>4</sup> КОЕ/мл, что позволяет предположить бактерионосительство.

### 3.3.2 Результаты диагностики урогенитальных инфекций методом

#### ПЦР

В группе сравнения методом ПЦР *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Herpes simplex virus* 1,2 типов и *Cytomegalovirus* не выявлены ни у одного обследуемого.

В группе пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов выявлены: *Ureaplasma parvum* у 16 (16%) человек, *Ureaplasma urealyticum* у четырех человек (4%), *Cytomegalovirus* у 1 человека, *Chlamydia trachomatis* у

двух человек (2%), сочетание *Mycoplasma genitalium* и *Ureaplasma urealyticum* у двух человек (2%), сочетание *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* также у двух человек (2%). Таким образом, методом ПЦР инфекционный агент выявлен у 27 человек (27%). Данные, полученные методом ПЦР, представлены в таблице 10.

Таблица 10 - Вид и частота встречаемости инфекционного агента в урогенитальном тракте обследованных мужчин

Вид инфекционного агента	Частота встречаемости в группе сравнения n = 30	Частота встречаемости в основной группе n = 100
<i>Ureaplasma parvum</i>	0(0%)	16(16%)
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	0(0%)	4(4%)
<i>Mycoplasma genitalium</i> / <i>Ureaplasma urealyticum</i>	0(0%)	2(2%)
<i>Mycoplasma hominis</i> / <i>Ureaplasma urealyticum</i>	0(0%)	2(2%)
<i>Chlamydia trachomatis</i>	0(0%)	2(2%)
<i>Cytomegalovirus</i>	0(0%)	1(1%)
Всего	0(0%)	27(27%)

По результатам полученных данных в урогенитальном тракте пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов установлено преобладание *Ureaplasma parvum* – 16 случаев (16%), которая относится к условно-патогенным микроорганизмам. Наличие патогенных микроорганизмов, таких как *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium*, составило суммарно 4 случая (4%).

Микробный спектр и количественные характеристики представлены на рисунке 62, из которого видно, что вегетирующие в урогенитальном тракте мужчин микроорганизмы достаточно разнообразны, но преобладающими являются представители условно-патогенной микрофлоры.

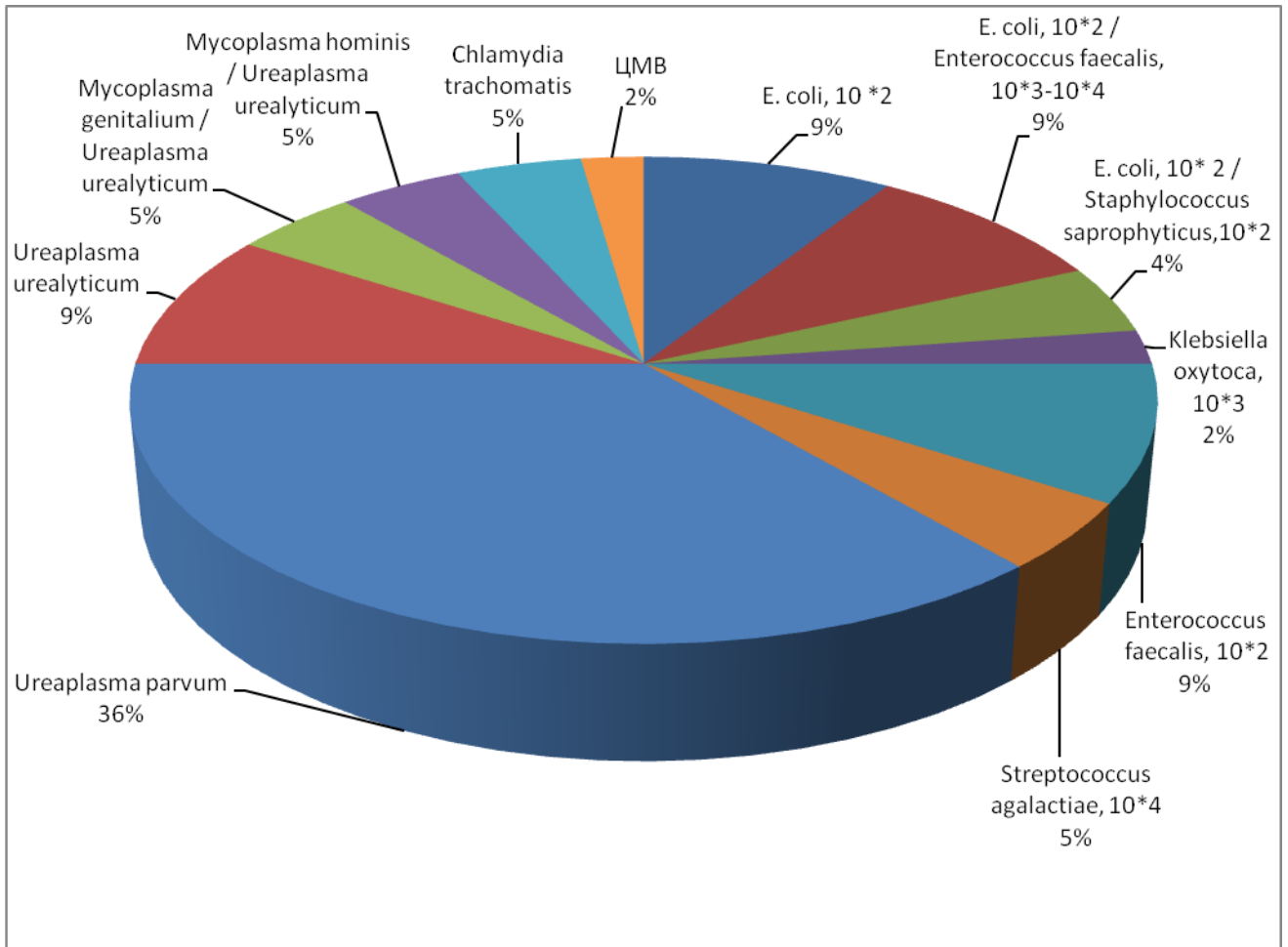


Рисунок 62 - Спектр выявленной микрофлоры в урогенитальном тракте мужчин с астенозооспермией

В четырех случаях инфекционный агент выявлен при одновременном использовании бактериологического посева и ЭМИС, в одном случае - при использовании ПЦР-диагностики и ЭМИС и в двух случаях - при использовании бактериологического посева и ПЦР-диагностики. Ни в одном случае не диагностирован инфекционный агент одновременно при использовании трех указанных методов.

Таким образом, обобщая полученные результаты диагностики урогенитальных инфекций, установлено, что использование трех методов (ПЦР, бактериологического посева эякулята и ЭМИС) позволило увеличить выявляемость инфекционного агента до 71 случая (71%).



### 3.4 Результаты иммунологического исследования

#### 3.4.1 Антиспермальные антитела

Для оценки вклада антиспермальных антител в нарушение подвижности сперматозоидов проведено определение концентрации АСАТ, циркулирующих в сыворотке крови, и в эякуляте - фиксированных на поверхности сперматозоидов и растворенных в семенной жидкости.

В группе сравнения АСАТ в сыворотке крови выявлены у всех пациентов, но их уровень не превышал допустимых значений. При иммунологическом исследовании эякулята, антитела, фиксированные на поверхности сперматозоидов, выявлены у 13 человек (43%). Вариант, когда у одного пациента присутствовали оба определявшихся класса АСАТ (IgA и IgG) составил восемь человек (27%). АСАТ только класса IgG выявлены в пяти случаях (17%). Концентрация АСАТ на поверхности сперматозоидов также не превышала референтного интервала. АСАТ в сыворотке крови и на поверхности сперматозоидов одновременно были выявлены в восьми случаях (27%). У здоровых мужчин АСАТ в семенной жидкости не обнаружены.

В основной группе при исследовании сыворотки крови АСАТ обнаружены у всех пациентов, их значения не выходили за пределы референтного интервала. В эякуляте АСАТ, фиксированные на поверхности сперматозоидов, выявлены у 57 человек (57%), их концентрация не превышала допустимых значений. Количество случаев, когда на поверхности сперматозоидов обнаружены АСАТ обоих классов, составило 32%. У четырех человек (4%) на поверхности сперматозоидов обнаружены только АСАТ класса IgA, а у 21 пациента (21%) – только АСАТ класса IgG. В семенной жидкости АСАТ у пациентов основной группы также не обнаружены. Данные определения концентрации АСАТ сыворотке крови, на поверхности сперматозоидов и в семенной жидкости представлены в таблице 11.

Таблица 11- Данные определения концентрации АСАТ сыворотке крови, в семенной жидкости и на поверхности сперматозоидов

АСАТ	Группа сравнения n = 30	Основная группа n = 100
АСАТ в сыворотке крови	30 (100%)*	100 (100%)*
Совместное выявление IgA и IgG на поверхности сперматозоидов	8 (27%)*	32 (32%)*
Изолированное выявление IgA на поверхности сперматозоидов	0	4 (4%)*
Изолированное выявление IgG на поверхности сперматозоидов	5 (17%)*	21 (21%)*
АСАТ в семенной жидкости	0(0%)	0(0%)

*Примечание:* \* - значения не превышают референтного интервала

Данные о средних значениях концентрации АСАТ в сыворотке крови, на поверхности сперматозоидов и в семенной жидкости представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Средние значения концентрации 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	26,34±0,94	29,48±0,89	<b>p &lt; 0,01</b>
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

Сравнительный анализ концентрации АСАТ в сыворотке крови, на поверхности сперматозоидов и в семенной жидкости выявил увеличение концентрации АСАТ в периферической крови при астенозооспермии, хотя общее содержание АСАТ не превышало в обеих группах референтного интервала.

Поскольку, в большинстве случаев, наличие АСАТ в эякуляте связано с присутствием инфекционного агента, была проведена оценка концентрации АСАТ на поверхности сперматозоидов у пациентов при наличии инфекционного агента в урогенитальном тракте и у пациентов без инфекционного агента.

Данные средних значений показателей концентрации 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 представлены в таблице 13.

Таблица 13 – 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	<b>p<sub>1</sub>&lt;0,005</b> ; p <sub>2</sub> <0,373; p <sub>3</sub> <0,054
Выявление IgG на поверхности сперматозоидов	5,3±1,83	4,29±0,97	1,45±1,97	p <sub>1</sub> <0,611; p <sub>2</sub> <0,057; p <sub>3</sub> <0,155
Выявление IgA на поверхности сперматозоидов	3,67±1,36	5,23±1,75	1,14±0,52	p <sub>1</sub> <0,421; p <sub>2</sub> <0,197; <b>p<sub>3</sub>&lt;0,037</b>

*Примечание:*

p<sub>1</sub> – достоверные различия между группой сравнения и группой с инф. агентом;

p<sub>2</sub> - достоверные различия между группой сравнения и группой без инфекционного агента;

p<sub>3</sub> - 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 IgA, фиксированных на поверхности сперматозоидов, чем у пациентов группы сравнения и пациентов основной группы, у которых инфекционный агент не выявлен.

### 3.4.2 Цитокины

При анализе уровней цитокинов в группе сравнения в сыворотке крови выявлено повышение уровня ИЛ-10 у двух человек (6%), и по одному случаю (3%) с увеличенным уровнем ИЛ-6 и ИЛ-1 $\beta$ . У остальных обследованных уровни цитокинов в сыворотке крови в пределах референтного интервала. В эякуляте выявлено увеличение уровня ИЛ-1 $\beta$  у четырех человек (12%) и увеличение уровня ИЛ-6 у шести человек (20%). У всех остальных пациентов уровни цитокинов находились в пределах референтного интервала. Случаев одновременного увеличения уровня цитокинов в сыворотке крови и в эякуляте не выявлено.

У пациентов основной группы получены следующие результаты. В сыворотке крови отмечено увеличение ИЛ-1 $\beta$  у четырех человек (4%), увеличение ИЛ-4 у двух человек (2%), увеличение ИЛ-10 у двух человек (2%). Повышение уровня ИЛ-6 в сыворотке крови не обнаружено ни у одного пациента. В эякуляте выявлено увеличение уровня ИЛ-1 $\beta$  у 18 человек (18%), ИЛ-10 у двух человек (2%), ИЛ-6 у 38 человек (38%). Увеличение уровня ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в эякуляте отмечено у 16 человек (16%). Увеличение уровня ИЛ-4 выше референтного значения не выявлено ни у одного человека, ни в сыворотке крови, ни в эякуляте. У двух человек (2%) выявлено увеличение ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови и увеличение обоих типов определяемых провоспалительных цитокинов в эякуляте. Данные определения уровней цитокинов в сыворотке крови и эякуляте исследуемых групп пациентов представлены в таблице 14.

Таблица 14 - Уровни цитокинов в сыворотке крови и эякуляте

Цитокины (пг/мл)	Группа сравнения n = 30		Основная группа n = 100	
	в сыворотке крови	в эякуляте	в сыворотке крови	в эякуляте
IL-1 $\beta$				
- в пределах нормы	29 (96%)	26 (88%)	96 (96%)	82 (82%)
- повышен	1 (3%)	4 (12%)	4 (4%)	18 (18%)
IL-6				
- в пределах нормы	29 (96%)	24 (80%)	100 (100%)	64 (64%)
- повышен	1 (3%)	6 (20%)	0	36 (36%)
IL-10				
- в пределах нормы	28 (93%)	30 (100%)	98 (98%)	98 (98%)
- повышен	2 (6%)	0	2 (2%)	2 (2%)
IL-4				
- в пределах нормы	30 (100%)	30 (100%)	98 (98%)	100 (100%)
- повышен	0	0	2 (2%)	0

Средние значения уровней цитокинов в сыворотке крови и в эякуляте группы сравнения и основной группы представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Средние значения уровней цитокинов в сыворотке крови и в эякуляте группы сравнения и основной группы

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

При анализе полученных результатов установлено статистически значимое повышение уровня IL-6 в сыворотке периферической крови при астенозооспермии, хотя не выявлено превышения референтного интервала для данного показателя. Уровни IL-1 $\beta$  и IL-6 в семенной жидкости выше, чем в

периферической крови, но значимо не отличались у пациентов в группе с нарушением подвижности сперматозоидов от показателей в группе сравнения.

Для того, чтобы определить, связано ли увеличение уровня цитокинов с наличием инфекционного агента в урогенитальном тракте было проведено определение содержания провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в периферической крови и семенной жидкости при астенозооспермии в группах с наличием инфекционного агента в урогенитальном тракте и у пациентов, у которых инфекционный агент не выявлен.

Данные средних значений показателей уровня цитокинов в сыворотке крови и в эякуляте пациентов группы с выявленным инфекционным агентом в урогенитальном тракте и группы пациентов без инфекционного агента представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Средние значения уровней цитокинов в сыворотке крови и эякуляте пациентов группы с выявленным инфекционным агентом в урогенитальном тракте и группы пациентов без инфекционного агента

Цитокины (пг/мл)	Группа сравнения n = 30	Группа с инфекционным агентом n = 71	Группа без инфекционного агента n = 29	p
Сыворотка крови:				
IL-1 $\beta$	1,76 $\pm$ 0,63	3,01 $\pm$ 0,77	1,87 $\pm$ 0,77	p <sub>1</sub> <0,21; p <sub>2</sub> <0,91; p <sub>3</sub> <0,25
IL-6	0,07 $\pm$ 0,04	0,77 $\pm$ 0,17	0,42 $\pm$ 0,17	<b>p<sub>1</sub>&lt;0,001</b> ; p <sub>2</sub> <0,06; p <sub>3</sub> <0,06
IL-4	1,05 $\pm$ 0,18	1,41 $\pm$ 0,23	1,89 $\pm$ 0,23	p <sub>1</sub> <0,23; p <sub>2</sub> <0,063; p <sub>3</sub> <0,11
IL-10	7,5 $\pm$ 1,7	5,4 $\pm$ 0,4	4,34 $\pm$ 0,4	p <sub>1</sub> <0,23; p <sub>2</sub> <0,07; p <sub>3</sub> <0,54
Эякулят:				
IL-1 $\beta$	10,67 $\pm$ 1,6	28,9 $\pm$ 13,0	1,97 $\pm$ 0,6	p <sub>1</sub> <0,28; p <sub>2</sub> <0,09; <b>p<sub>3</sub>&lt;0,04</b>
IL-6	41,13 $\pm$ 9,8	48,4 $\pm$ 9,8	29,61 $\pm$ 9,8	p <sub>1</sub> <0,81; p <sub>2</sub> <0,36; p <sub>3</sub> <0,49
IL-4	2,08 $\pm$ 0,23	1,73 $\pm$ 0,12	1,55 $\pm$ 0,12	p <sub>1</sub> <0,17; p <sub>2</sub> <0,06; p <sub>3</sub> <0,49
IL-10	5,71 $\pm$ 0,64	5,23 $\pm$ 0,86	4,25 $\pm$ 0,86	p <sub>1</sub> <0,65; p <sub>2</sub> <0,17; p <sub>3</sub> <0,36

Примечание:

p<sub>1</sub> – достоверные различия между группой сравнения и группой с инф. агентом;

p<sub>2</sub> - достоверные различия между группой сравнения и группой без инфекционного агента;

p<sub>3</sub> - достоверные различия между группой с инфекционным агентом и группой без инфекционного агента

Определение уровня анализируемых цитокинов в сыворотке крови и семенной жидкости продемонстрировало, что у пациентов основной группы наблюдается увеличение концентрации IL-6 в периферической крови, а при наличии инфекционного агента в урогенитальном тракте наблюдается выраженное увеличение IL-1 $\beta$  в семенной жидкости.

### **Результаты общеклинических методов исследования**

Общеклинические методы исследования проведены с целью исключения острых или обострения хронических заболеваний, в том числе и урогенитального тракта, которые могут исказить иммунологические, гормонально-метаболические показатели.

*Общий анализ крови.* В общем анализе крови пациентов группы сравнения повышенный уровень лейкоцитов выявлен у четырех человек (12%), а снижение количества лейкоцитов установлено у двух человек (6%), у четырех человек (12%) обнаружена эозинофилия. Остальные показатели у всех обследованных были в пределах нормы.

По результатам общего анализа крови пациентов основной группы повышение уровня лейкоцитов выявлено у восьми человек (8%), а снижение количества лейкоцитов - у двух человек (2%). Увеличение количества моноцитов выявлено у четырех человек (4%), снижения их количества не выявлено ни у одного человека. Эозинофилия обнаружена у 10 человек (10%), а снижение количества эозинофилов выявлено в одном случае (1%). Увеличение количества базофилов выявлено у 10 человек (10%). Признаки анемии выявлены у шести человек (6%). Повышение СОЭ было выявлено у четырех человек (4%). Достоверных различий в уровнях гематологических показателей между группами не установлено.

*Общий анализ мочи.* В общем анализе мочи пациентов группы сравнения не выявлено патологических изменений исследуемых показателей.

У пациентов основной группы в девяти случаях (9%) обнаружено повышение количества лейкоцитов в общем анализе мочи и в одном случае (1%) выявлены измененные эритроциты.

Анализ полученных данных в исследованных группах показал, что существенных различий в показателях общего анализа мочи не обнаружено.

*Микроскопическое исследование отделяемого уретры.* Исследование отделяемого уретры проведено с целью выявления острого воспалительного процесса в урогенитальном тракте, а также для диагностики возбудителей гонореи и трихомониаза – наиболее распространенных причин мужского бесплодия.

При исследовании отделяемого уретры в шести случаях (6%) из группы пациентов страдающих бесплодием выявлены признаки воспаления, проявляющиеся повышением количества лейкоцитов в материале. *Tr. vaginalis* и *N. Gonorrhoeae* не обнаружены ни у одного пациента.

*Исследование секрета предстательной железы.* На момент обследования ни у одного из пациентов обеих групп не выявлено патологических изменений в секрете предстательной железы.

### **3.6 Результаты биохимических методов исследования**

При оценке биохимических показателей пациентов группы сравнения отмечен нормальный уровень общего белка у всех обследуемых. Гипергликемия выявлена у двух человек (6%). Дислипидемия, проявляющаяся увеличением уровней холестерина, ЛПНП, триглицеридов и снижением уровня ЛПВП, выявлена у пяти человек (16%). Увеличение только уровней холестерина и ЛПНП выявлено у двух человек (6%), а изолированное увеличение уровня холестерина у одного человека (1%).

У пациентов основной группы увеличение уровня общего белка выявлено у одного человека (1%). Гипергликемия обнаружена у 18 человек (18%), а гиперхолестеринемия у 32 человек (32%), причем, сочетание гипергликемии и



дислипидемии отмечено у восьми человек (8%). Снижение уровня холестерина выявлено у двух человек (2%). Повышение уровня ЛПНП выявлено у 20 человек (20%), а снижение уровня ЛПНП установлено у четырех человек (4%). Совместное увеличение холестерина и ЛПНП отмечено у 16 человек (16%). У двух человек (2%) снижение уровня холестерина сочеталось со снижением уровня ЛПНП.

ЛПВП повышены у двух человек (2%), а снижение уровня ЛПВП отмечалось у 20 человек (20%), причем у четырех человек (4%) установлено и снижение уровня ЛПНП. У четырех человек (4%) на фоне снижения ЛПВП выявлено повышение уровней холестерина и ЛПНП.

Повышенный уровень триглицеридов отмечен у 26 человек (26%), а сниженный уровень триглицеридов не выявлен ни в одном случае. У шести человек (6%) повышение уровня триглицеридов сопровождалось повышением уровней холестерина и ЛПНП. Данные биохимического исследования в обеих группах представлены в таблице 17.

Таблица 17- Результаты биохимического исследования

Биохимические показатели	Группа сравнения n = 30 человек	Основная группа n = 100 человек
Общий белок (г/л):		
- повышение	0	1 (1%)
- понижение	0	0
Глюкоза (ммоль/л):		
- повышение	2 (6%)	18 (18%)
- понижение	0	0
Холестерин (ммоль/л):		
- повышение	8 (26%)	32 (32%)
- понижение	0	2 (2%)
ЛПНП (ммоль/л):		
- повышение	7 (23%)	20 (20%)
- понижение	0	4 (4%)
ЛПВП (ммоль/л):		
- повышение	0	2 (2%)
- понижение	5* (16%)	20 (20%)
Триглицериды (ммоль/л):		
- повышение	5* (16%)	26 (26%)
- понижение	0	1 (1%)

Примечание: \* - одновременное изменение показателей

Выявлен достоверно более высокий уровень глюкозы у пациентов основной группы по сравнению с пациентами группы сравнения. Кроме того, в обеих группах установлено увеличение атерогенных фракций липидов (холестерин, ЛПНП и триглицериды) и снижении антиатерогенных (ЛПВП), но достоверных различий между группами не выявлено.

Данные о средних значениях биохимических показателей пациентов группы сравнения и основной группы представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Средние значения биохимических показателей пациентов группы сравнения и основной группы

Биохимические 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	<b>p &lt; 0,005</b>
Холестерин (ммоль/л)	4,86±1,14	4,9±0,9	p < 0,84
ЛПНП (ммоль/л)	2,7±0,91	2,95±0,77	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

Резюмируя полученные результаты видно, что дислипидемия встречается у пациентов обеих групп, но у пациентов основной группы достоверно чаще выявляется гипергликемия. Можно считать, что метаболические нарушения в большей степени характерны для пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов.

### 3.7 Результаты гормональных исследований

При исследовании гормонального статуса пациентов группы сравнения выявлено, что уровни таких гормонов, как ТТГ, ЛГ, прогестерон, эстрадиол, ПРЛ, не выходят за пределы референтного интервала. Увеличение уровня ФСГ выявлено у одного человека (3%), увеличение уровня общего тестостерона выявлено у двух человек (6%). Также диагностировано снижение уровня

общего тестостерона у двух человек (6%) и снижение уровня свободного тестостерона у одного человека (1%).

При исследовании гормонального профиля пациентов основной группы выявлены следующие изменения. Увеличение уровня ТТГ обнаружено у 10 человек (10%) и не выявлено ни одного случая снижения. Повышение уровня ФСГ выявлено у 10 человек (10%), а снижение - у четырех человек (4%). Повышение уровня ЛГ выявлено у 18 человек (18%), в то время как случаев снижения уровня ЛГ не зафиксировано. Одновременно увеличение уровней ФСГ и ЛГ отмечено у восьми человек (8%). В уровнях таких гормонов как прогестерон, эстрадиол и ПРЛ отмечено только повышение и ни одного случая снижения. Увеличение уровня прогестерона выявлено у 10 человек (10%), уровня эстрадиола у 14 человек (14%), уровня ПРЛ у четырех человек (4%). В уровнях тестостерона и свободного тестостерона выявлено только снижение и ни одного случая повышения. Уменьшение уровня общего тестостерона выявлено у 20 человек (20%), а уменьшение уровня свободного тестостерона выявлено у 24 человек (24%), совместное снижение уровней общего и свободного тестостерона отмечено у 10 человек (10%). Таким образом, те или иные изменения гормонального профиля выявлены у 86 человек (86%) этой группы (либо это изменение уровня какого-либо одного гормона, либо нескольких). Данные гормональных исследований обеих групп представлены в таблице 19.

При проведении сравнительного анализа гормонального статуса пациентов обеих групп диагностирован достоверно более высокий уровень ЛГ и эстрадиола у пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов. Здесь же следует отметить наметившуюся тенденцию снижения уровней общего и свободного тестостерона в основной группе, хотя достоверные различия с группой сравнения не установлены. Не менее показателен и тот факт, что в основной группе за пределы референтного интервала выходят показатели более широкого спектра гормонов, чем у пациентов группы сравнения.

Таблица 19 - Результаты гормональных исследований

Исследуемый гормон	Группа сравнения n = 30 человек	Основная группа n = 100 человек
Тестостерон общий (нмоль/л):		
- повышение	2 (6%)	0
- снижение	2 (6%)	20 (20%)
Тестостерон свободный (пг/мл):		
- повышение	0	0
- снижение	1 (3%)	24 (24%)
ФСГ (мМЕ/мл):		
- повышение	1 (3%)	10 (10%)
- снижение	0	4 (4%)
ЛГ (мМЕ/мл):		
- повышение	0	18 (18%)
- снижение	0	0
ПРЛ (мМЕ/мл):		
- повышение	0	4 (4%)
- снижение	0	0
ТТГ (мМЕ/мл):		
- повышение	0	10 (10%)
- снижение	0	0
Эстрадиол (пмоль/л):		
- повышение	0	14 (14%)
- снижение	0	0
Прогестерон (нмоль/л):		
- повышение	0	10 (10%)
- снижение	0	0

Данные о средних значениях гормональных показателей пациентов в группе сравнения и основной группе представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Средние значения гормональных показателей 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	<b>p &lt; 0,001</b>
ПРЛ (мМЕ/мл):	235,1 $\pm$ 138,7	212,8 $\pm$ 123,3	p < 0,43
ТТГ (мМЕ/мл):	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	<b>p &lt; 0,001</b>
Прогестерон (нмоль/л):	2,34 $\pm$ 0,93	2,73 $\pm$ 1,43	p < 0,08

### **3.7 Результаты цитогенетического обследования**

При оценке результатов цитогенетического исследования нормальный мужской кариотип диагностирован у всех обследованных группы сравнения (100%).

У одного пациента основной группы обнаружено изменение в кариотипе - укорочение длинного плеча Y-хромосомы (делеция фрагмента), что составило 1% от общего количества пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов. Еще у одного пациента выявлен мужской кариотип с неполной перичентрической инверсией хромосомы 9 и увеличением размеров спутников хромосомы 22, что является вариантом нормы. У всех остальных пациентов этой группы также диагностирован нормальный мужской кариотип.

### **3.8 Результаты исследования анамнестических данных**

При анализе анамнестических данных пациентов обеих групп, установлено, что у всех обследованных наследственность не отягощена, аллергоанамнез спокоен, профессиональные вредности отсутствуют. При сопоставлении данных о количестве курящих пациентов, стаже курения, количестве выкуриваемых в день сигарет, а также частоты употребления алкоголя значимых различий между группами не выявлено. Особого рассмотрения заслуживают данные о наличии хронического простата вне обострения. Если в группе сравнения хронический простатит диагностирован у 2 человек (6 %), то в основной группе количество таких пациентов составило 53 (53 %). Здесь же необходимо отметить, что ЗППП в анамнезе выявлено у одного пациента (3%) группы сравнения и у 18 пациентов (18%) основной группы. В группе сравнения варикоцеле не обнаружено ни у одного пациента, а в основной группе оно диагностировано у 12 обследованных (12%).

Резюмируя данные результаты, можно предположить, что у пациентов основной группы выявляются предпосылки не только для поддержания

хронического вялотекущего воспаления, но и для формирования аутоиммунных реакций к сперматозоидам.

В ходе исследования у пациентов обеих групп установлены корреляционные взаимосвязи, наиболее сильные из которых представлены в таблицах 21, 22.

Таблица 21 – Корреляционные взаимосвязи в группе сравнения

<b>Прямые корреляционные взаимосвязи</b>		<b>r</b>
IL-4 (эяк.)	IL-1 $\beta$ (сыв.)	0,505328
IL-10 (эяк.)	IL-1 $\beta$ (сыв.)	0,76631
IL-6 (эяк.)	IL-1 $\beta$ (эяк.)	0,983486
IL-10 (эяк.)	IL-4 (эяк.)	0,562581

Таблица 22 - Корреляционные взаимосвязи в основной группе

<b>Прямые корреляционные взаимосвязи</b>		<b>r</b>
IL-10 (эяк.)	Mar-тест IgG	0,579359
IL-6 (сыв.)	IL-1 $\beta$ (сыв.)	0,779598
IL-10 (эяк.)	IL-6 (эяк.)	0,543962
IL-1 $\beta$ (сыв.)	холестерин	0,532706
IL-6 (сыв.)	триглицериды	0,723717

Обратных корреляционных взаимосвязей не выявлено ни в одной из исследуемых групп.

В группе сравнения наиболее сильные корреляционные взаимосвязи выявлены между провоспалительными цитокинами на системном уровне и противовоспалительными цитокинами на локальном уровне, а также между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами на локальном уровне.

В основной группе наиболее значимые корреляционные связи установлены между провоспалительными цитокинами на системном уровне, а

также между провоспалительными цитокинами и липидами в сыворотке крови. На локальном уровне выявлены корреляционные связи между противовоспалительными цитокинами и провоспалительными цитокинами и антиспермальными антителами класса IgG, фиксированными на поверхности сперматозоидов.

По результатам проведенного исследования выявлены достоверно значимые изменения сперматозоидов на ультраструктурном уровне, а также изменения ряда иммунологических, гормонально-метаболических показателей, наличие инфекционного агента в урогенитальном тракте у пациентов основной группы.

## АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ АСТЕНОЗОСПЕРМИИ

При диагностике мужского бесплодия базовым исследованием является спермограмма. Проведение данного исследования позволило установить, что самой распространенной патологией сперматозоидов является нарушение их подвижности (рисунок 1). Однако спермограмма не дает понимания причин нарушения подвижности. Исследование эякулята позволило выявить наличие агглютинации и слизи, которые могут рассматриваться как возможные причины астенозооспермии. Слизь механически препятствует движению сперматозоидов. Агглютинация сперматозоидов – это склеивание подвижных сперматозоидов между собой головками, жгутиками или головок со жгутиками (смешанная форма агглютинации). Обычно наличие агглютинации связывают с иммунологическим фактором бесплодия, хотя иммунологическое бесплодие может быть и при отсутствии агглютинации [16]. В норме агглютинация и слизь в эякуляте отсутствуют. В группе сравнения выявлена слабо выраженная агглютинация головками сперматозоидов. В основной группе агглютинация выраженная или резко выраженная, преимущественно смешанного типа. Кроме того, у пациентов основной группы в 40 случаях (40%) в эякуляте выявлена слизь, механически препятствующая движению сперматозоидов.

Наличие агглютинации в группе сравнения не повлияло на подвижность сперматозоидов, а в основной группе привело к астенозооспермии.

Как известно, основной структурой, ответственной за подвижность сперматозоидов является жгутик. Поэтому следующим этапом обследования стала попытка определить изменения структур жгутика, приводящих к нарушению подвижности.

На ультраструктурном уровне в жгутиках сперматозоидов выявлены изменения митохондрий, гиперплазированная ядерная мембрана, вероятно связанные с нарушением их подвижности. В большинстве случаев обнаружено



набухание митохондрий, но в ряде случаев выявлено их уплотнение и уменьшение в размерах. К патологическим изменениям митохондрий относятся также нарушение двухконтурности мембран, деструкция крист, гомогенизация митохондриального матрикса, в тяжелых случаях – просветление матрикса и опустошение митохондрий, нарушение спиральной упаковки со смещением митохондрий относительно друг друга. Указанные изменения митохондрий выявлены во всех случаях астенозооспермии, но с разной частотой и степенью выраженности. При наличии только гиперплазированной ядерной мембраны нарушения подвижности сперматозоидов были незначительны, проявлялись увеличением категорий «С» и «D». Более тяжелые нарушения подвижности сперматозоидов отмечались в тех случаях, когда патологические изменения затрагивали митохондрии, либо когда патологические изменения митохондрий сочетались с гиперплазией ядерной мембраны. В таких случаях отмечено количественное преобладание сперматозоидов категорий «С» и «D» над сперматозоидами с прогрессивной подвижностью. В литературе подобные изменения в сперматозоидах чаще всего описаны при действии оксидантного стресса, обусловленного действием различных этиологических факторов [63, 223, 260, 280, 119, 169, 121, 69], а по некоторым данным – оксидантный стресс рассматривается как основной механизм повреждения ультраструктур сперматозоидов [259, 232, 124, 194, 305, 165]. Фактором уязвимости митохондрий к действию активных форм кислорода является их локализация. В соматических клетках митохондрии распределены в цитоплазме и удалены друг от друга. При повреждении одной или нескольких митохондрий остальные, не подвергшиеся негативному воздействию, продолжают функционировать. В сперматозоиде митохондрии локализованы вокруг аксонемы (в среднем отделе жгутика) в виде спирально закрученной цепи, что обеспечивает быструю передачу АТФ на аксонему и подвижность сперматозоида. Набухание митохондрий, их смещение или неправильное положение в спиральной упаковке, недостаточное количество митохондрий нарушает механизм передачи энергии для движения сперматозоида, что, в первую очередь,

проявляется астенозооспермией разной степени выраженности [298, 102]. Кроме того, компактное расположение митохондрий способствует распространению повреждения от одной митохондрии к другой, приводя к патологическим изменениям всего митохондриального комплекса. Отсутствие у сперматозоидов цитоплазмы, в которой локализованы антиоксидантные системы клетки, также способствует повреждению его ультраструктур активными формами кислорода [249, 311].

Необходимо отметить, что базальная пластинка, сегментированные столбики, центриоли, аксонема достаточно стабильны и их изменения выявлены в единичных клетках. Патологические изменения в остальных структурах, ответственных за подвижность сперматозоидов (центральные и периферические дуплеты, наружные плотные фибриллы, денеиновые ручки, структуры фиброзного слоя), обнаружены в единичных сперматозоидах, количество которых настолько мало, что их вкладом в развитие астенозооспермии, по-видимому, можно пренебречь.

Патологические изменения определены не только в жгутиках, но и в головках сперматозоидов, в частности, выявлены изменения структуры хроматина и акросомы. Наиболее часто в сперматозоидах пациентов основной группы отмечены вакуолизация или гранулярность хроматина, набухание и деградация акросомы. Перечисленные изменения структур сперматозоидов могли быть обусловлены как генетически [178, 320], так и действием внешних факторов [99, 61]. В первом случае, скорее всего, изменения были бы диагностированы у всей популяции сперматозоидов. Поскольку изменения ультраструктуры обнаружены в большинстве, но не во всех сперматозоидах, можно предположить, что эти нарушения вызваны действием именно внешних факторов. Набухание и преждевременная деградация акросомы также может быть связана с избыточным количеством активных форм кислорода в эякуляте, которые повреждают мембрану акросомы и активируют ферменты, локализованные в ней. Кроме того, активные формы кислорода обуславливают

фрагментацию ДНК, блокируя при этом механизмы ее репарации, приводя к формированию вакуолей в головках сперматозоидов [65, 254, 331].

При электронно-микроскопическом исследовании эякулята в основной группе в 34% случаев установлена бактериоспермия, сопровождавшаяся наличием сегментоядерных нейтрофилов в эякуляте. В литературе рассмотрено несколько механизмов повреждения структур сперматозоидов при наличии инфекционного агента в урогенитальном тракте. Во-первых, это - конкуренция с микроорганизмами за вещества и микроэлементы, необходимые для метаболизма в сперматозоидах [88]. Во-вторых, микроорганизмы способствуют течению хронического воспаления и миграции сегментоядерных нейтрофилов в очаг воспаления, которые являются источником активных форм кислорода, запуская тем самым оксидантный стресс [119, 260, 280, 199]. При бактериоспермии обнаружены набухание и смещение митохондрий сперматозоидов, просветление митохондриального матрикса, деструкция крист, гиперплазия ядерной мембраны, повреждения хроматина и акросомы. Следует отметить, что чаще встречались тяжелые изменения митохондрий, вплоть до их полного опустошения, а также нарушения дифференцировки сперматозоидов, проявляющиеся наличием клеток со сдвоенными головками или жгутиками.

При электронно-микроскопическом исследовании бактерии в эякуляте обнаружены адсорбированными на тяжах слизи и эпителиальных клетках, внутри макрофагов и слепков в просвете канальцев. Вероятно, это способствовало формированию биопленок – особого биоценоза, в котором бактерии способны длительно существовать в урогенитальном тракте. С одной стороны, адгезия на слизи, эпителиальных клетках защищает бактерии от распознавания иммунной системой организма. С другой стороны, такие биопленки, возможно, препятствуют росту бактерий на питательных средах и они не могут быть диагностированы бактериологическим методом исследования эякулята. Бактериологический посев эякулята позволил диагностировать наличие инфекционного агента у 17 обследованных (17%), установить бактериальный морфотип и титр, что лежит за пределами

возможности метода электронной микроскопии. Кроме того, для диагностики урогенитальной инфекции использовался метод ПЦР, с помощью которого инфекционный агент диагностирован еще у 27 пациентов (27%). Совместное использование трех методов для выявления бактериоспермии существенно повысило выявляемость инфекционного агента, помогло установить, что спектр микроорганизмов в урогенитальном тракте представлен, преимущественно, условно-патогенной микрофлорой (*E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Ureaplasma parvum*). Определение титра бактерий показало, что он невысокий и вероятнее всего имеет место бактерионосительство. Следует обратить внимание на то, что на ультраструктурном уровне не установлено специфических различий в изменениях сперматозоидов в зависимости от вида возбудителя. Учитывая тот факт, что инфекционный агент обнаружен только у пациентов с астенозооспермией, и те изменения, которые выявлены в сперматозоидах, можно полагать, что присутствие условно-патогенной микрофлоры в урогенитальном тракте является одним из ведущих факторов в нарушении подвижности сперматозоидов.

Долгое время мужской репродуктивный тракт и иммунная система изучались как не связанные между собой системы, но в последние два десятилетия особый интерес возник к влиянию обеих систем на мужское бесплодие, в частности, в оценке антиспермальных антител в качестве частой непосредственной причины бесплодия [310]. У мужчин антитела могут вырабатываться к собственным сперматозоидам. Для оценки участия АСАТ в нарушении репродукции проведено определение их концентрации в сыворотке крови, семенной жидкости и на поверхности сперматозоидов. В семенной жидкости АСАТ не обнаружены, а уровни выявленных АСАТ на поверхности сперматозоидов и в сыворотке крови не превышали референтный интервал. АСАТ в сыворотке крови обнаружены у пациентов обеих групп, но достоверно выше их содержание у пациентов с астенозооспермией. Обычно считается, что появление АСАТ в сыворотке крови связано с повышением проницаемости гематотестикулярного барьера. Гематотестикулярный барьер - не только

плотные соединения между клетками Сертоли [231]. Ультраструктурно гематотестикулярный барьер состоит из плотных соединений, эктоплазматических специализаций и десмосомоподобных контактов. Все эти структуры функционируют совместно для поддержания его целостности [186]. Основная их функция состоит в создании соответствующего микроокружения, необходимого для контроля развития и созревания зародышевых клеток, а также отграничения их от иммунных реакций [205, 111]. В ходе сперматогенеза указанные соединения подвергаются реструктуризации, чтобы облегчить транзит сперматоцитов на стадии прелептотены через гематотестикулярный барьер, а также для содействия миграции развивающихся клеток в сторону просвета канальцев [100, 203]. Движение половых клеток через эпителий семенных канальцев жестко регулируется и требует точной синхронизации для того, чтобы не произошло увеличения его проницаемости [204]. Таким образом, до мейотического деления зародышевые клетки взаимодействуют с системным кровотоком и, имея на своей поверхности минимальный набор антигенов (так как клетки еще недостаточно дифференцированы), возможно, вызывают иммунизацию, обеспечивая базовый уровень сывороточных АСАТ. Скорее всего, такая низкая доза антигена необходима для развития толерантности к антигенам гамет. В яичке создаются условия, при которых антигенспецифический (адаптивный) иммунитет подавлен, а врожденные иммунные функции сохранены или даже усилены [224]. Нарушение этого контроля при хроническом воспалении, инфекции, травме приводит к развитию аутоиммунных реакций и образованию антиспермальных антител [175]. Наличие ЗППП в анамнезе, хронический простатит, варикоцеле и наличие условно-патогенной микрофлоры в урогенитальном тракте могли привести к повышению уровня антиспермальных IgA, фиксированных на поверхности сперматозоидов, концентрация которых у пациентов основной группы с выявленным инфекционным агентом в урогенитальном тракте достоверно выше. АСАТ класса IgA синтезируются В-лимфоцитами неинкапсулированной лимфоидной ткани слизистых оболочек, в том числе и урогенитального тракта

и являются фактором специфической иммунной защиты. Хронический вялотекущий воспалительный процесс в урогенитальном тракте будет приводить к повышению секреции локальных АСАТ, избыточному образованию слизи. Бактерии, присутствующие в урогенитальном тракте могут существенно модифицировать антигены сперматозоидов. Некоторые бактерии сами обладают антигенами, сходными с антигенами сперматозоидов (антигенная мимикрия), что также способствует активации аутоиммунных реакций к сперматозоидам. Наиболее изученным механизмом влияния АСАТ на сперматозоиды является снижение подвижности последних путем их агглютинации [214], так как у мужчин АСАТ чаще бывают агглютинидами [14, 35]. Кроме того, локальные антитела оказывают прямое цитотоксическое действие на сперматозоиды. Поскольку специфические антигены локализованы во всех структурах сперматозоидов, локальные АСАТ, фиксируясь на поверхность сперматозоидов, могут приводить к повреждению их ультраструктуры, что диагностировано в сперматозоидах пациентов основной группы. Как видно из литературных данных, антитела в титрах до 1:32 не оказывают негативного влияния на фертильность, но могут рассматриваться в качестве причины бесплодия в более высоких концентрациях [52, 14, 80]. Поскольку уровень сывороточных АСАТ и АСАТ на поверхности сперматозоидов не превышал допустимых значений, а, по результатам исследования, агглютинация выявлена в обеих группах, можно предположить, что присутствие АСАТ даже в пределах референтного интервала приводит к нарушению подвижности и повреждению ультраструктуры сперматозоидов.

Наличие хронического воспаления, инфекционного агента в урогенитальном тракте могут привести к повышению уровня провоспалительных цитокинов [220, 152]. Результаты проведенного исследования не противоречат этим данным, поскольку выявлены достоверно незначимые, но все же более высокие уровни провоспалительных цитокинов в семенной жидкости пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов. Значимое повышение диагностировано для IL-6 в сыворотке крови при

астенозооспермии. Более углубленное исследование цитокинового профиля у пациентов с астенозооспермией на фоне присутствия инфекционного агента в урогенитальном тракте показало, что у таких пациентов отмечается значительное увеличение концентрации ИЛ-1 $\beta$  в семенной жидкости. Следовательно, присутствие инфекционного агента в урогенитальном тракте является фактором увеличения провоспалительных цитокинов на локальном уровне. Повышение уровня провоспалительных цитокинов сопровождается активизацией лимфоцитов, макрофагов, которые являются продуцентами активных форм кислорода, запускающих оксидантный стресс, оказывающий повреждающее действие на структуру сперматозоидов [252, 167, 115, 289, 90, 83, 272, 74, 199]. Установлено, что у пациентов с патологией сперматозоидов выше уровень перекисного окисления липидов сперматозоидов, который значимо коррелирует с уровнем ИЛ-6 в сыворотке крови [90].

Иногда только повышение уровня провоспалительных цитокинов дает возможность предположить присутствие инфекционного агента в урогенитальном тракте [250, 185]. В некоторых случаях, напротив, отсутствие повышения провоспалительных и повышение уровня противовоспалительных цитокинов позволяет установить бактерионосительство. В частности, *E. Coli* обладает способностью блокировать фактор запуска экспрессии провоспалительных цитокинов и активирует транскрипцию генов противовоспалительных цитокинов [78, 252, 329]. Однако, в проведенном исследовании не получено подтверждающих результатов, поскольку не установлено существенных различий в уровнях исследуемых противовоспалительных цитокинов ни между сравниваемыми группами, ни у пациентов с инфекцией урогенитального тракта и без нее. Тем не менее, баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов отражает состояние иммунитета, наличие инфекции урогенитального тракта, влияет на структуру и функцию сперматозоидов [91, 329]

Не менее важную роль играют цитокины, в частности ИЛ-1 $\beta$ , в регуляции реструктуризации гематотестикулярного барьера. Установлено по крайней мере

два источника, регулирующих проницаемость барьера: гормоны и цитокины [211]. Цитокины и тестостерон оказывают противоположное действие на целостность гематотестикулярного барьера [100]. Цитокины способствуют реструктуризации гематотестикулярного барьера, а тестостерон регулирует его сборку после того, как сперматозиты пересекут барьер [186]. Цитокины функционируют в качестве ключевых регуляторных молекул, контролирующих или инициирующих активацию сигнала. Активация пути передачи сигнала приводит к увеличению фосфорилирования интегральных мембранных белков и изменению их функциональных свойств, что способствует ремоделированию гематотестикулярного барьера [211]. Тестостерон восстанавливает их целостность, так как гематотестикулярный барьер не может быть открыт даже кратковременно. Очевидно, увеличение уровня IL-1 $\beta$ , особенно на фоне снижения уровня тестостерона, может приводить к повышению проницаемости гематотестикулярного барьера и развитию аутоиммунных реакций с образованием АСАТ. Возможно, этот механизм лежит в основе более высокого уровня АСАТ у пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов. Несмотря на то, что достоверные различия установлены только в уровнях IL-1 $\beta$  в семенной жидкости и IL-6 в сыворотке крови, выявленные коррелятивные связи между всеми исследованными цитокинами могут свидетельствовать о том, что цитокины действуют не изолированно, а в совокупности и способны прямо или косвенно влиять на функции спермы [281, 257]. В группе сравнения корреляционные связи выявляются между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами как в сыворотке крови, так и в семенной плазме. Повышение уровня провоспалительных цитокинов на системном уровне усиливает выработку противовоспалительных цитокинов на локальном уровне, обеспечивая защиту репродуктивного тракта от повреждающего действия провоспалительных цитокинов. Наличие АСАТ на поверхности сперматозоидов свидетельствует об активации аутоиммунных процессов на локальном уровне, что приводит к увеличению выработки противовоспалительных цитокинов для уменьшения проявлений



воспалительного процесса. Таким образом, можно предположить, что для оптимального функционирования репродуктивной системы необходим баланс цитокинов и в сыворотке крови, и в эякуляте. При его нарушении возникает изменение не только функции и морфологии сперматозоидов, но и гематотестикулярного барьера.

Следующая большая группа факторов, способных привести к нарушению подвижности сперматозоидов – гормонально-метаболические. Они настолько тесно взаимосвязаны, что целесообразно рассматривать результаты биохимических и гормональных исследований совместно.

У пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов выявлен достоверно более высокий уровень глюкозы в сыворотке крови. Кроме того, в обеих группах установлена тенденция к нарушению липидного обмена, проявляющаяся в увеличении атерогенных фракций липидов (холестерин, ЛПНП и триглицериды) и снижении антиатерогенных (ЛПВП).

Гипергликемия и дислипидемия могут рассматриваться как компоненты метаболического синдрома [150, 67, 166]. Метаболическая агрессия, направленная на герминативный эпителий, может быть причиной нарушения сперматогенеза [255, 181, 49, 265]. Липиды являются фактором индукции и прогрессирования системного оксидантного стресса, который приводит к митохондриальной дисфункции герминативного эпителия и обуславливает развитие оксидантного стресса сперматозоидов [138, 273, 277, 317, 121, 248].

Гипергликемия направлена на поддержание эффективного углеводного обмена в условиях метаболического синдрома [49, 296]. 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 [198, 181, 69, 265]. В основной группе повышение уровня липидов в сыворотке крови способствует их перекисному окислению и инициирует системный воспалительный ответ,

проявляющийся увеличением уровня провоспалительных цитокинов, причем повышение ИЛ-6 сопровождается повышением ИЛ-1 $\beta$ .

Дислипидемия и гиперхолестеринемия влияют на уровень фосфолипидов и жирных кислот в эякуляте, что приводит к изменению функциональных возможностей мембран сперматозоидов – отмечается набухание мембран, повышение проницаемости, изменяется их текучесть и мембранный потенциал [291, 285, 84]. Измененная ядерная мембрана сперматозоидов становится избыточной и в процессе сперматогенеза не удаляется полностью в составе остаточных телец, а сохраняется в цитоплазматической капле в области шейки и среднего отдела жгутика, нарушая тем самым их подвижность [314]. 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 диагностированию астенозооспермии. Кроме того, повышается проницаемость измененных мембран, что приводит к формированию отека, уменьшению количества сперматозоидов в эякуляте. Повышение проницаемости мембран и изменение их свойств обуславливает и активацию аутоиммунных процессов с образованием повышенного количества АСАТ.

Гипергликемия, вероятно, приводит к повышению уровня глюкозы в семенной жидкости, что создает благоприятные условия для длительного существования условно-патогенной микрофлоры в урогенитальном тракте пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов [267].

Одним из дополнительных механизмов патогенеза метаболического синдрома у мужчин является снижение уровня тестостерона, поскольку выраженность андрогенного дефицита находится в достоверной обратной связи с выраженностью нарушений углеводного и жирового обменов [150, 179, 195]. Висцеральный и периферический жир вырабатывают большое количество гормонов, провоспалительных цитокинов и ферментов, в том числе ароматазу,

под действием которой происходит превращение тестостерона в эстрогены [51, 196, 179, 228]. Хотя, по нашим данным, достоверных различий в уровне тестостерона между группами не установлено, видно, что у пациентов в основной группе чаще выявлено снижение уровня тестостерона, чем у пациентов в группе сравнения. О недостатке тестостерона у пациентов основной группы свидетельствует и достоверно значимое увеличение уровней ЛГ и эстрадиола. У мужчин эстрогены в небольшом количестве продуцируются клетками Лейдига, клетками Сертоли, сперматоцитами [92]. Но повышение уровня эстрадиола указывает на усиленную ароматизацию тестостерона в периферических тканях на фоне дислипидемии [196, 201, 180]. Недостаток тестостерона приводит к увеличению синтеза ЛГ, связывание его с клетками Лейдига для активации метаболизма холестерина и увеличения субстратов стероидогенеза и усиления синтеза андрогенов [268]. Кроме того, известно, что цитокины (IL-1 $\beta$ ) способны ингибировать стероидогенез в клетках Лейдига, что способствует угнетению синтеза тестостерона [179, 49]. Таким образом, повышенный уровень эстрадиола и ЛГ 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 (олигозооспермия). Субклинический андрогенный дефицит предполагается на основании того, что повышение уровней эстрадиола и ЛГ только в двух случаях сопровождалось снижением уровня общего тестостерона, а в остальных случаях его уровень находился в пределах референтного интервала. Снижение уровней общего и свободного тестостерона не сопровождавшееся повышением уровней эстрадиола и ЛГ выявлено у пациентов в возрасте от 39 до 45 лет, что может свидетельствовать о физиологическом снижении синтеза тестостерона.

Недостаток тестостерона приводит к нарушению восстановления гематотестикулярного барьера после реструктуризации, а повышение проницаемости барьера может вызвать образование АСАТ. По-видимому, это тоже один из факторов повышения уровня антиспермальных антител у

пациентов основной группы. Как показали результаты проведенного исследования, в основной группе изменения обнаружены не только в уровнях ЛГ и эстрадиола, но и тестостерона, ФСГ, ТТГ, прогестерона, пролактина, вследствие чего возникает гормональный дисбаланс. Достаточный уровень каждого гормона вносит свой вклад в формирование сперматозоидов с нормальной морфологией. Очевидной является необходимость определения уровня тестостерона, эстрадиола, ЛГ, но не менее важным является и определение уровня других гормонов, таких как ТТГ, ФСГ, пролактина, прогестерона. Исследование показало необходимость комплексного гормонального обследования пациентов с бесплодием.

Все больше внимания в последнее время уделяется изучению влияния генетических факторов на развитие мужского бесплодия, поскольку установлено, что частота хромосомной патологии выше у мужчин с различными патологическими изменениями сперматозоидов и составляет не менее 5 – 15% у таких пациентов [46]. Наследственный материал в природе постоянно подвергается изменению (мутационный процесс), что, в свою очередь, приводит к хромосомным нарушениям. Отклонения в кариотипе имеет приблизительно половина всех зигот, образующихся у человека, но до рождения доходит их малая часть, так как большинство элиминируется на ранних стадиях развития [258].

Кариотип – это набор хромосом с характерными морфологическими признаками. У человека кариотип представлен 46 хромосомами, образующими 23 пары, из которых 22 пары являются аутосомами и одна пара представлена половыми хромосомами. В клетках женского организма половые X-хромосомы гомологичные, а в мужском организме негомологичные X- и Y- хромосомы [1].

Хромосомные нарушения приводят к отклонениям в физическом и психическом развитии, затрагивают все системы организма, оказывая влияние и на репродуктивную функцию человека. Клинические проявления мутаций будут тем тяжелее, чем выше степень хромосомных нарушений.

По результатам цитогенетического исследования нормальный мужской кариотип был выявлен у всех обследуемых группы сравнения.

У одного пациента группы астенозооспермии обнаружено укорочение длинного плеча Y-хромосомы (делеция фрагмента). Y-хромосома является одной из самых мелких хромосом и с помощью классического цитогенетического метода трудно определить локализацию и размер делетированного фрагмента. В Y-хромосоме локализованы участки, в которых содержатся гены, контролирующие сперматогенез. Утрата такого участка приведет к нарушению сперматогенеза, которое обычно проявляется снижением количества сперматозоидов и приводит к бесплодию [93, 288]. У данного пациента не выявлено снижения количества сперматозоидов, но определялось нарушение подвижности сперматозоидов, обусловленное изменением ультраструктур сперматозоидов. Возможно, укорочение длинного плеча Y-хромосоме произошло за счет утраты фрагмента, содержащего указанные гены. Еще у одного пациента выявлен мужской кариотип с неполной перичентрической инверсией хромосомы 9 и увеличением размеров спутников хромосомы 22, что является вариантом нормы. У всех остальных пациентов этой группы определялся нормальный мужской кариотип. Исходя из полученных данных, видно, что вклад хромосомных нарушений в развитие астенозооспермии составляет 1%.

Из анамнестических сведений внимания заслуживают факторы, которые чаще были определены у пациентов основной группы, а именно: наличие хронического простатита вне обострения, ЗППП в анамнезе и варикоцеле. Как известно, эти факторы приводят к поддержанию вялотекущего воспаления в урогенитальном тракте [132, 229], являясь источником активных форм кислорода, способны приводить к образованию АСАТ, способствовать увеличению уровня провоспалительных цитокинов [270, 236, 327, 153, 213].

Не менее важным в возникновении астенозооспермии является курение и употребления алкоголя, хотя достоверных различий между группами в количестве выкуриваемых сигарет и употребляемого алкоголя не установлено.

В литературе не указаны данные о безопасном количестве сигарет и алкоголя, которое бы не оказывало действие на сперматозоиды [112, 139, 104]. Скорее всего, и алкоголь, и никотин оказывают опосредованное действие на сперматозоиды путем снижения антиоксидантной защиты [140, 157, 118, 294, 241], а также изменения гормонального статуса, поскольку у пациентов, курящих и употребляющих алкоголь, по данным литературы, диагностируется снижение уровня ФСГ, ЛГ, тестостерона, повышение уровня эстрадиола [242, 235]. Как видно из проведенного исследования, количество пациентов в обеих группах, которые курят и употребляют алкоголь, достоверно не отличаются, но в одних случаях астенозооспермия возникает, а в других – нет. Видимо, рассматриваемые факторы являются отягощающими на фоне присутствия инфекции в урогенитальном тракте и гормонально-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.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили оценить роль иммунологических, инфекционных, гормонально-метаболических и генетических факторов в развитии астенозооспермии у мужчин с бесплодием.

На основании ЭМИС, установлено, что нарушение подвижности сперматозоидов обусловлено повреждением структур среднего отдела жгутиков сперматозоидов. Диагностировано набухание митохондрий, в ряде случаев, выявлено изменение их спиральной упаковки, деструкция крист, что может свидетельствовать о нарушении энергетического обеспечения подвижности сперматозоидов. Показано наличие в среднем отделе жгутика такого ультраструктурного дефекта как гиперплазированная ядерная мембрана, также достоверно чаще выявленного в основной группе пациентов. Кроме того, нарушению подвижности сперматозоидов сопутствовало повреждение структур сперматозоидов, не отвечающих за их подвижность, а именно хроматина и акросомы. Выявленные изменения могут быть дополнительным фактором мужского бесплодия. Таким образом, можно считать, что самыми уязвимыми структурами сперматозоидов, судя по частоте встречаемости, являются митохондрии, ядерные мембраны и хроматин, акросома, а остальные структуры стабильны. Кроме того, с помощью электронной микроскопии не только установлен факт бактериоспермии, как одного из факторов, приводящих к повреждению ультраструктур сперматозоидов, но и выявлены способы существования бактерий в урогенитальном тракте. Бактерии обнаружены в виде колоний, адгезированные на фрагментах клеток и тяжах слизи, внутри слепков канальцев и макрофагов, скрытые от распознаваний иммунокомпетентными клетками. Метод ЭМИС позволил существенно повысить выявляемость инфекции урогенитального тракта. Вклад электронной микроскопии в диагностику бактериоспермии составил 34%. Для диагностики инфекционного агента в урогенитальном тракте были использованы метод ПЦР диагностики и бактериологический посев эякулята. Это дало возможность

определить морфотип выделенных микроорганизмов и установить, что их спектр, в основном, представлен условно-патогенной микрофлорой, а удельный вес облигатных патогенных микроорганизмов невелик и составляет 10% от общего количества случаев выделения инфекционного агента. Определение титра бактерий показало, что он невысок, что свидетельствует в пользу бактерионосительства. Тем не менее, присутствие инфекционного агента способствовало развитию локального воспалительного процесса, формированию оксидантного стресса, что привело к повреждению ультраструктуры сперматозоидов. Следовательно, совместное использование трех методов диагностики инфекционного агента существенно повысило его выявляемость и составило 71%, что может рассматриваться как один из ведущих факторов развития астенозооспермии.

АСАТ в сыворотке крови определены у пациентов обеих групп и их уровень достоверно выше у пациентов основной группы. Также достоверно выше концентрация антиспермальных IgA на поверхности сперматозоидов у пациентов основной группы, у которых выявлен инфекционный агент в урогенитальном тракте. Но концентрация АСАТ в сыворотке крови и на поверхности сперматозоидов не превышала референтного интервала. Установлены объективные причины, которые могут привести к усилению продукции АСАТ: присутствие инфекционного агента в урогенитальном тракте, наличие хронического простатита вне обострения, варикоцеле. АСАТ вызывают обездвиживание сперматозоидов путем агглютинации с последующим разрушением их в присутствии комплемента, а также путем прямого цитотоксического действия на сперматозоиды. Выявлено, что АСАТ в пределах референтного интервала приводят к развитию астенозооспермии путем агглютинации сперматозоидов и повреждения их ультраструктуры. Определение концентрации АСАТ при обследовании мужчин, страдающих бесплодием, является обязательным, поскольку высокая концентрация АСАТ может приводить к развитию астенозооспермии.



Исследование цитокинового профиля показало, что при нарушении подвижности сперматозоидов отмечается достоверно значимое повышение уровня провоспалительных цитокинов, особенно на фоне инфекционного агента в урогенитальном тракте. Провоспалительные цитокины - маркеры воспаления, способствуют развитию оксидантного стресса и повреждению сперматозоидов на ультраструктурном уровне. Участие цитокинов в регуляции функционирования гематотестикулярного барьера также играет немаловажную роль, поскольку повышение уровня провоспалительных цитокинов может привести к повышению его проницаемости и активации аутоиммунных реакций. Поэтому определение уровня провоспалительных цитокинов в диагностике бесплодия важно с точки зрения определения активности воспалительного процесса и с прогностической целью в отношении проницаемости гематотестикулярного барьера и синтеза АСАТ.

Проведенное исследование позволило установить, что изменения гормональных и метаболических нарушений являются важными факторами в развитии астенозооспермии и они тесно взаимосвязаны. В исследовании установлены достоверно значимые показатели гипергликемии у пациентов с нарушением подвижности сперматозоидов. Кроме того, в обеих группах выявлены случаи дислипидемии, но различия между группами недостоверны. Тем не менее, наличие гипергликемии и дислипидемии в основной группе следует рассматривать как компоненты метаболического синдрома. Метаболический синдром приводит к поддержанию системного воспаления, обеднению клеток глюкозой и гликозилированию клеточных мембран. Все это вместе запускает перекисное окисление липидов и развитие оксидантного стресса, морфологическим проявлением которого является повреждение ультраструктур сперматозоидов. Повышение атерогенных фракций липидов способствует повышенной ароматизации тестостерона в эстрогены. Обнаружено снижение уровня тестостерона у пациентов основной группы, но достоверных различий с группой сравнения не установлено. Возможно, определение только уровня тестостерона не позволило бы диагностировать его

снижение. Достоверно значимое увеличение эстрадиола и ЛГ в группе астенозооспермии помогло установить субклиническую андрогенную недостаточность. На недостаток тестостерона указывает повышение уровня эстрадиола, как результат избыточной ароматизации андрогенов, и повышение уровня ЛГ, который необходим для стимуляции стероидогенеза в клетках Лейдига при снижении уровня тестостерона в сыворотке крови. Недостаток тестостерона, в свою очередь приводит к нарушению сперматогенеза, что в совокупности с дислипидемией, обуславливает изменение свойств мембран и вызывает формирование гиперплазированной ядерной мембраны. Помимо изменений в уровнях эстрадиола и ЛГ, у пациентов основной группы изменения были установлены и в уровнях других исследуемых гормонов, таких как ФСГ, ТТГ, ПРЛ, тестостерон, прогестерон, в то время как у пациентов группы сравнения таких изменений не обнаружено. И хотя различия статистически недостоверны, такие изменения могут влиять на репродуктивную функцию.

Следовательно, при диагностике мужского бесплодия важно определение спектра гормонов, поскольку их действие взаимосвязано и изменение уровня одних гормонов может помочь в выявлении изменений других.

Изменения в гормонально-метаболическом статусе пациентов вносят существенный вклад в развитие астенозооспермии.

Результаты проведенного цитогенетического исследования выявили изменения кариотипа у одного пациента в основной группе. Диагностированное изменение связано с делецией длинного плеча Y-хромосомы. У всех остальных пациентов установлен нормальный мужской кариотип. Вклад генетических факторов в развитие астенозооспермии составляет 1%, что необходимо учитывать при диагностике мужского бесплодия.

Таким образом, можно предположить, что основными факторами, которые вызывают повреждение ультраструктур сперматозоидов, ответственных за их подвижность, являются иммунологические факторы, гормонально метаболические нарушения, наличие инфекционного агента в

урогенитальном тракте. Тем не менее, следует отметить, что все изученные факторы тесно связаны между собой и даже незначительное изменение одних показателей влечет за собой изменение других. Поэтому важен комплексный подход в диагностике мужского бесплодия с привлечением специалистов из разных областей.

Метод электронно-микроскопического исследования сперматозоидов с количественным подсчетом выявленных ультраструктурных дефектов внедрен в практику МАУ «Клинико-диагностический центр», МБУ ДГБ № 10 (Городской перинатальный центр).

Полученные данные используются в учебном процессе ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. По результатам проведенной работы опубликовано 4 статьи в рецензируемых журналах, выпущена монография.

В ходе исследования выполнены все поставленные задачи.

### **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 уrogenитальном тракте приводит к развитию локальной воспалительной реакции, о чем свидетельствует повышение уровня ИЛ-1 $\beta$  в семенной жидкости.

3. Наиболее часто в уrogenитальном 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 ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Айала Ф. Современная генетика: в 3 тт. / Ф. Айала, Дж.Кайгер. – М.: Мир, 1987. – 336 с.
2. Айзикович Б.И. Роль цитокинов в регуляции сперматогенеза: современный взгляд на проблему / Б.И. Айзикович, И.В. Айзикович, О.Ю. Верба и др. // Иммунология. - 2008. - № 3. - С. 191-193.
3. Александрова Ю.Н. О системе цитокинов / Ю.Н. Александрова // Педиатрия. – 2007. - Т. 86, № 3. - С. 124-128.
4. Банникова Е.А. Генетика эндокринных заболеваний / Е.А. Банникова, Т.И. Бужиевская, Е.М. Сильванская. - Киев: Наук. думка, 1993. - 400 с.
5. Брагина Е.Е. Количественное ультраструктурное исследование хроматина сперматозоидов при нарушении фертильности / Е.Е. Брагина, В.А. Замятина, Е.Н. Бочарова и др. // Андрология и генитальная хирургия. - 2009. - Т. 1. - С. 44-49.
6. Брагина Е.Е. Патозооспермия: электронно-микроскопическая диагностика генетически обусловленных и приобретенных форм мужского бесплодия / Е.Е. Брагина, Е.Н. Бочарова, Р.А. Абдумаликов и др. // Андрология и генитальная хирургия. - 2003. - № 3-4. - С. 31-35.
7. Брагина Е.Е. Электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов как функциональный тест спермиологического обследования / Е.Е. Брагина, Р.А. Абдумаликов // Руководство по сперматологии. - 2002. - С. 2-12.
8. Вербицкий М.Ш. Перекрестно реагирующие антигены блестящей зоны яйцеклеток млекопитающих / М.Ш. Вербицкий, И.П. Папзов, В.И. Шошев // Онтогенез. - 1980. - № 6. - С. 583-593.
9. Водянова Т.В. Оценка цитокинового статуса организма экспериментальных животных при моделировании инфекционного процесса возбудителями внутрибольничных инфекций / Т.В. Водянова, М.А. Шибаета,

Ю.Ю. Елисеев и др. // Медицинская иммунология. – 2007. - № 2–3. - С. 126 – 127.

10. Ворник Б.М. Этапная диагностика бесплодия у мужчин, страдающих сексуальными расстройствами: мет. рек. / Б.М. Ворник. - М., 1981. - 24 с.

11. Ворсанова С.Г. Молекулярно-цитогенетическая диагностика наследственных болезней, связанных с различными аномалиями хромосом X / С.Г. Ворсанова, Ю.З. Юров, И.А. Александров // Педиатрия. - 1998. - № 1. – С.78-80.

12. Ворсанова С.Г. Аномалии половых хромосом при нарушении репродуктивной функции у мужчин / С.Г. Ворсанова, В.О. Шаронин, Л.Ф. Курило // Проблемы репродукции. - 1998. - Т.4, № 2. - С.12-18.

13. Говалло В.И. Клеточные и гуморальные факторы, подавляющие иммунитет при беременности / В.И. Говалло, Н.В. Стрижова, И.Д. Алиханова // Тезисы IV международного симпозиума по иммунологии репродукции. – София, 1978. - С. 169- 170.

14. Говалло В.И. Иммунология репродукции / В.И. Говалло. - М.: Медицина, 1987. - 304 с.

15. Гоголевская И.К. Y- хромосома и мужское бесплодие / И.К. Гоголевская, П.А. Гоголевский // Проблемы репродукции. - 1999. - № 5. - С. 26-34.

16. Долгов В.В. Лабораторная диагностика мужского бесплодия / В.В. Долгов, С.А. Луговская, И.И. Миронова и др. - М.; Тверь: Триада, 2006. - 146 с.

17. Древаль А.В. Роль гормональных факторов в становлении мужской репродуктивной системы: лекция / А.В. Древаль // Андрология и генитальная хирургия. - 2001. - № 1. - С. 11-17.

18. Евдокимов Е.Е. Нарушение сперматогенеза при варикоцеле – патогенез и прогноз лечения / Е.Е. Евдокимов, Т.О. Семенов // Урология и генитальная хирургия. - 2006. - № 3. - С.12-18.

19. Захаров А.Ф. Хромосомы человека: атлас / А.Ф. Захаров, В.А. Бенюш, Н.П. Кулешов, Л.И. Барановская. - М.: Медицина, 1982. – 236 с.

20. Калашникова Е.А. Альфа-2-микροглобулин фертильности (гликоделин) как возможный иммунодепрессивный фактор антиспермального иммунитета / Е.А. Калашникова, С.Н. Кокаровцева, М.И. Марицкая и др. // Мед. иммунология. - 2003. - Т.5, № 3-4. - С. 336-337.

21. Калашникова Е.А. Антигены сперматозоидов и антиспермальные антитела, ассоциированные с бесплодием / Е.А. Калашникова // Проблемы репродукции. - 2004. - № 4. - С. 55-60.

22. Кетлинский С.А. Взаимодействие между гормонами и цитокинами в регуляции гипоталамус – гипофизарной - адреналовой оси / С.А. Кетлинский // Медицинский академический журнал. - 2008. - Т. 8, № 1. - С. 51 – 60.

23. Кирпатовский И.Д. Патология и коррекция пола / И.Д. Кирпатовский, И.В. Голубева. - М.: Изд-во РУДН, 1992. - 210 с.

24. Китаев Э.М. Короткая схема стимуляции сперматогенеза гонадотропинами в процедурах вспомогательной репродукции / Э.М. Китаев, А.И. Никитин, А.А. Молчанов // Проблемы репродукции. - 1999. - № 1. - С. 32- 34.

25. Коган М.И. Морфологические эквиваленты иммунного бесплодия при варикоцеле / М.И. Коган, Д.В. Сизякин, И.С. Дерижанова // Андрология и генитальная хирургия. – 2000. - № 1. - С. 41-45.

26. Козлова С.И. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование / С.И. Козлова, Н.С. Демикова, О.Е. Блинников и др. - М.: Практика, 1996. - 410 с.

27. Коненков В.И. Цитокиновые полигенные комплексы – маркеры индивидуальной настройки состояния цитокиновой сети здорового человека и пациентов с заболеваниями различной природы / В.И. Коненков // Аллергология и иммунология. - 2011. - Т.12, № 2. - С. 191-194.



28. Кулешов Н.П. Современные проблемы в клинической цитогенетике / Н.П. Кулешов // Современные проблемы в клинической цитогенетике: сб. науч. тр. - М., 1991. - С. 91-146.

29. Курило Л.Ф. Возможности цитогенетического исследования мейоза при мужском бесплодии / Л.Ф. Курило // Цитология и генетика. - 1989. - Т.23, № 2. - С.63-70.

30. Курило Л.Ф. Количественный кариотипический анализ состава незрелых половых клеток из эякулята / Л.Ф. Курило, И.А. Любашевская, В.П. Дубинская // Урология и нефрология. - 1993. - № 5. - С. 45-47.

31. Курило Л.Ф. Анализ патологии сперматогенеза различной этиологии по эякуляту / Л.Ф. Курило, В.П. Дубинская, Т.В. Остроумова // Проблемы репродукции. - 1995. - № 3. - С.33- 38.

32. Курило Л.Ф. Некоторые этапы дифференцировки пола, развития половых клеток и органов половой системы человека / Л.Ф. Курило // Проблемы репродукции. - 1996. - № 2. - С. 62-70.

33. Курило Л.Ф. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной жидкостью / науч. ред., проф. Л.Ф. Курило. - М.: МедПресс, 2001. - 144 с.

34. Курило Л.Ф. Структура наследственных нарушений репродуктивной системы / Л.Ф. Курило, Л.В. Шилейко, Т.М. Сорокина и др. // Акушерство и гинекология. - 2001. - № 3. - С.32-35.

35. Мартенова А.А. Иммунологические аспекты мужской инфертильности при урогенитальном хламидиозе / А.А. Мартенова, Н.Ю. Стогникова // Медицинская Иммунология. - 2003. - Т.5, № 3-4. - С. 339-340.

36. Назаров С.Б. Влияние антиспермальных антител на интенсивность свободнорадикального окисления и антиоксидантную активность спермальной плазмы мужчин при нарушении репродуктивной функции / С.Б. Назаров, Г.Н. Кузьменко, Е. А. О-жи-хо и др. // Проблемы репродукции. - 2010. - № 2. – С. 60-62.

37. Никитин А.И. Исчезающий пол ? / А.И. Никитин // Морфология. - 2003. - № 6.- С. 80-85.
38. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: приказ № 535 / Минздрав СССР. - М., 1985.
39. Останин А.А. Цитокиновый профиль семенной плазмы человека / А.А. Останин, Б.И. Айзикович, Е.Р. Черных // Проблемы репродукции. - 2006. - № 6. - С. 65-74.
40. Пальцев М.А. Цитокины и их роль в межклеточных взаимодействиях / М.А. Пальцев // Архив патологии. - 1996 - Т. 58, № 6. - С. 3 – 7.
41. Пшеничникова Т.Я. Бесплодие в браке / Т.Я. Пшеничникова. - М.: Медицина, 1991. - 318 с.
42. Рябинченко Е.В. Молекулярные аспекты повреждающего действия бактериальных липополисахаридов / Е.В. Рябинченко, Л.Г. Веткова, В.М. Бондаренко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. - 2004. - № 3. - С. 98–105.
43. Савичева А.М. Генитальные микоплазмы и вызываемая ими патология / А.М. Савичева, М.А. Башмакова // Лечащий врач. - 2008. - № 10. - С. 11-16.
44. Савичева А.М. Этиологическая диагностика и терапия репродуктивно значимых инфекций / А.М. Савичева // Трудный пациент. - 2007. - Т. 1, № 5. - С. 21-28.
45. Симпсон Д.Л. Генетика в акушерстве и гинекологии / Д.Л. Симпсон, М.С. Голбус, Э.О. Мартин и др. - М.: Медицина, 1985. - 352 с.
46. Сокур С.А. Взаимосвязь патозооспермии и анеуплоидии хромосом сперматозоидах и эмбрионах в программах вспомогательных репродуктивных технологий / С.А. Сокур, Н.В. Долгушина, Ж.И. Глинкина // Акушерство и гинекология. - 2013. - № 3. - С. 10-13.

47. Сухих Г.Т. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению / Г.Т. Сухих, Т.А. Назаренко. - М.: ГОЭТАР-Медиа, 2010. - 734 с.
48. Тиктинский О.Л. Андрология / О.Л. Тиктинский, В.В. Михайличенко. - СПб.: Медиа Пресс, 1999. - 432 с.
49. Тюзиков И.А. Метаболический синдром и мужское бесплодие / И.А. Тюзиков // Андрология и генитальная хирургия. - 2013. - № 2. - С. 5-10.
50. Устинкина Т.И. Общие вопросы эндокринологии мужской половой системы: структурно-функциональная организация, этиопатогенез и основные формы нарушения половых желез / Т.И. Устинкина // Проблемы эндокринологии. - 2007. - Т.53, № 6. - С. 34-40.
51. Файзуллин Л.З. Роль полиморфизма гена ароматазы (CYP19) в развитии бесплодия у мужчин с ожирением / Л.З. Файзуллин, О.Х. Тажетдинов, В.Н. Карнаухов и др. // Акушерство и гинекология. - 2013. - № 10. - С. 76-80.
52. Черешнев В.А. Иммунологические и генетические факторы нарушения репродуктивной функции / В.А. Черешнев, И.В. Рыбина, Я.Б. Бейкин и др. - Екатеринбург: УрО РАН, 2005. - 176 с.
53. Шевченко Е.А. Урогенитальные инфекции и хронические воспалительные процессы репродуктивной системы / Е.А. Шевченко, А.А. Артефиксова // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2010. - № 2. - С. 25-27.
54. Ширшова Л.С. Аномалии и варианты хромосом у бесплодных мужчин с азооспермией / Л.С. Ширшова, Д.И. Кристесашвили // Хромосомы человека в норме и при патологии: сб.науч.тр. - М., 1989. - С.117-123.
55. Abasalt H.C. Lipid peroxidation and large-scale deletions of mitochondrial DNA in asthenoteratozoospermic patients / H.C. Abasalt, J.S. Gholamali, G.C. Maryam // Indian J Biochem Biophys. – 2013. – Vol. 50, No. 6. – P. 492-499.

56. Abdalla M.I. Endocrine profile of semen in subfertile males with varicocele / M.I. Abdalla, I.I. Ibrahim, S.M. Girgis, et al. // Arch. Androl. - 1981. - Vol.6, No. 2. - P.175-179.

57. Afzelius B.A., Eliasson R. Lack of dynein arms in immotile human spermatozoa / B.A. Afzelius, R. Eliasson // J. Cell Biol. - 1975. - Vol. 66. - P. 225-232.

58. Agarwal A. Relationship between oxidative stress, Varicocele and infertility: a meta-analysis / A. Agarwal, S. Prabakaran, S.S. Allamaneni // Reprod. Biomed. Online. - 2006. - Vol. 12, No. 5. - P. 630-633.

59. Ahlgren G. Impaired secretory function of the prostate in men with oligo-asthenozoospermia / G. Ahlgren, G. Rannevik, H. Lilja // J. Androl. - 1995. - Vol. 16, No. 6. - P. 491-498.

60. Aiman J. Serum and seminal plasma prolactin concentrations in men with normospermia, oligospermia, or azospermia / J. Aiman, M. McAsey, L. Harms // Fertil. Steril. - 1988. - Vol. 49, No. 1. - P. 33-37.

61. Aitken R.J. Analysis of the Relationship Between Defective Sperm Function and the Generation of ReactiveOxygen Species in Cases of Oligozoospermia / R.J. Aitken, J.S. Clarkson, T.B. Hargreave, et al. // J.Andrology. - 1989. - Vol. 10, No. 5-6. - P. 214-220.

62. Aitken R.J. Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa / R.J. Aitken, A.J. Koppers // Asian J. Androl. - 2011. - Vol. 13, No. 1. - P. 36-42.

63. Aitken R.J. Relative Impact of Oxidative Stress on the Functional Competence and Genomic Integrity of Human Spermatozoa / R.J. Aitken, E. Gordon, D. Harkiss, et al. // Biology of Reproduction. - 1998. - Vol.11. - P.1037-1046.

64. Aksoy Y. Seminal plasma nitric oxide concentration in oligo- and/or asthenozoospermic subjects with/without varicocele / Y. Aksoy, I. Ozbey, H. Aksoy, et al // Arch. Androl. - 2002. - Vol. 48, No. 3. - P. 181-185.

65. Aktan G. Mystery of idiopathic male infertility: is oxidative stress an actual risk? / G. Aktan, S. Doğru-Abbasoğlu, C. Küçükgergin, et al. // *Fertil Steril.* – 2013. - Vol. 99, No. 5. - P. 1211-1215.

66. Al-Ali B.M. Clinical parameters and semen analysis in 716 Austrian patients with varicocele / B.M. Al-Ali, M. Marszalek, R. Shamloul, et al. // *Urology.* - 2010. - Vol. 75, No. 5. - P. 1069-1073.

67. Alberti G. Introduction to the metabolic syndrome / G. Alberti // *Eur Heart J.* - 2005. - 7(Suppl D): D3-5.

68. Alves M.G. Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility / M.G. Alves, A.D. Martins, L. Rato, et al. // *Biochim Biophys Acta.* – 2013. - Vol. 1832, No. 5. - P. 626-635.

69. Amaral S. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species / S. Amaral, P.J. Oliveira, J. Ramalho-Santos // *Curr. Diabetes. Rev.* - 2008. – Vol.4, No. 1. - P. 46-54.

70. Andrade-Rocha F.T. Semen analysis in laboratory practice: an overview of routine / F.T. Andrade-Rocha // *J. Clin. Lab. Anal.* - 2003. - Vol. 6. - P. 247-258.

71. Aoki V.W. Protamine levels vary between individual sperm cells of infertile human males and correlate with viability and DNA integrity // V.W. Aoki, B.R. Emery, L. Liu, et al. // *J. Androl.* - 2006. - Vol. 27, No 6. - P. 890-898.

72. Baccetti B. The effect of follicle stimulating hormone therapy on human sperm structure (notulae spermologicae) / B. Baccetti, E. Strebler, S. Capitani, et al. // *Hum. Reprod.* - 1997. - Vol. 12. - P. 1955-1968.

73. Baker H.W. The human acrosome reaction / H.W. Baker, D.Y. Liu, C. Garrett, et al. // *Asian J. Androl.* - 2000. - Vol. 2, No. 3. - P.172-178.

74. Benedetti S. Differences in blood and semen oxidative status in fertile and infertile men, and their relationship with sperm quality / S. Benedetti, M.C. Tagliamonte, S. Catalani, et al. // *Reprod Biomed Online.* – 2012. - Vol. 25, No. 3. - P. 300-306.

75. Benoff S. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of mitochondrial DNA (mtDNA) mutations in male infertility / S. Benoff, K. Auburn, J.L. Marmar, et al. // I. J. Med. Res. - 2009. - Vol. 129 - P. 127-137.

76. Bhattacharya S.M. Diabetes mellitus and abnormalities in semen analysis / S.M. Bhattacharya, M. Ghosh, N. Nandi // J Obstet Gynaecol Res. – 2014. - Vol. 40, No. 1. - P. 167-171.

77. Bhongade M.B. Effect of psychological stress on fertility hormones and seminal quality in male partners of infertile couples / M.B. Bhongade, S. Prasad, R. C. Jiloha, et al. // Andrologia. – 2014. – Article published online.

78. Bhushan S. Uropathogenic *E. coli* induce different immune response in testicular and peritoneal macrophages: implications for testicular immune privilege / S. Bhushan, H. Hossain, Y. Lu, et al. // PLoS One. - 2011. - Vol. 6, No 12.

79. Bianchi P.G. Chromatin packaging and morphology in ejaculated human spermatozoa: evidence of hidden anomalies in normal spermatozoa / P.G. Bianchi, G.C. Manicardi, U. F. Francoise, et al. // Mol. Hum. Reprod. - 1996. - Vol. 3. - P.139-144.

80. Boettcher B. The production of antispermatozoal antibodies of the IgG and IgA classes in the male tract / B. Boettcher, D. Kay // J. Reprod. Immunol. - 1983. – No. 5. - P. 48-49.

81. Bolyakov A. Prolactin in men's health and disease / A. Bolyakov, D.A. Paduch // Curr. Opin. Urol. - 2011. - Vol. 21, No. 6. - P.527-534.

82. Bongso T.A. Human fertilization by micro-injection of immotile spermatozoa / T.A. Bongso, A.H. Sathananthan, P.C. Wong, et al. // Hum. Reprod. - 1989. - Vol. 4, No. 2. - P. 175-179.

83. Buch J.P. Cytokines stimulate lipid membrane peroxidation of human sperm / J.P. Buch, T.F. Kolon, N. Maulik, et al. // Fertil Steril. - 1994. - Vol. 62, No 1. – P. 186-188.

84. Buffone M.G. Capacitation-associated changes in membrane fluidity in asthenozoospermic human spermatozoa / M.G. Buffone, G.F. Doncel, J.C. Calamera, et al. // Int. J. Androl. - 2009. - Vol. 32, No. 4. - P. 360-375.

85. Buffone M.G. Decreased protein tyrosine phosphorylation and membrane fluidity in spermatozoa from infertile men with varicocele / M.G. Buffone, S. Brugo-Olmedo, J.C. Calamera, et al. // *Mol. Reprod. Dev.* - 2006. - Vol. 73, No. 12. - P.1591-1597.

86. Buitrago J.M. Serum hormones and seminal parameters in males with thyroid disturbance / J.M. Buitrago, L.C. Diez // *Andrologia.* - 1987. - Vol. 19, No. 1. - P. 37-41.

87. Bujan L. Increased oestradiol level in seminal plasma in infertile men / L. Bujan, R. Mieusset, F. Audran, et al. // *Hum. Reprod.* - 1993. - Vol. 8, No. 1. - P. 74-77.

88. Bukharin O.V. The role of the microbial factor in the pathogenesis of male infertility / O.V. Bukharin, M.D. Kuz'min, Yu.B. Ivanov // *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* - 2000. - Vol. 2. - P. 106-110.

89. Butt F. Semen analysis parameters: experiences and insight into male infertility at a tertiary care hospital in Punjab / F. Butt, N. Akram // *J Pak Med Assoc.* – 2013. - Vol. 63, No. 5. - P. 558-562.

90. Camejo M.I. Interleukin-6 (IL-6) in seminal plasma of infertile men, and lipid peroxidation of their sperm / M.I. Camejo, A. Segnini, F. Proverbio // *Arch Androl.* - 2001. - Vol. 47, No 2. - P. 97-101.

91. Camejo M.I. Relation between immunosuppressive PGE(2) and IL-10 to pro-inflammatory IL-6 in seminal plasma of infertile and fertile men / M.I. Camejo // *Arch Androl.* - 2003. - Vol .49, No 2. - P. 111-116.

92. Carraau S. Arjmatase oestrogens and human male Reproduction / S. Carraau, S. Wolezysky, I. Galeraund-Denis // *Philos. Trans. R. Soc B. Long. Biol. Sci.* - 2010. - Vol. 27, No 365(1546). - P. 1571-1579.

93. Castro A. Microdeletion of Y chromosome in severe olygozoospermic infertile patient / A. Castro, P. López, M.C. Johnson, et al. // *Rev. Med. Chil.* - 2000. – Vol. 128, No. 7. - P.778-782.

94. Centola G.M. Semen assessment / G.M. Centola // *Urol Clin North Am.* – 2014. - Vol. 41, No. 1. - P. 163-167.

95. Chavarro J.E. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic // J.E. Chavarro, T.L. Toth, D.L. Wright, et al. // *Fertil. Steril.* - 2010. - Vol. 93, No. 7. - P. 2222-2231.

96. Check J.H. Sera gonadotropins, testosterone, and prolactin levels in men with oligozoospermia or asthenozoospermia / J.H. Check, D. Lurie, B.H. Vetter // *Arch. Androl.* - 1995. - Vol. 35, No. 1. - P.57-61.

97. Chellat D. First study of microdeletions in the Y chromosome of Algerian infertile men with idiopathic oligo- or azoospermia / D. Chellat, M.L. Rezgoune, K. McElreavey, et al. // *Urol Int.* – 2013. - Vol. 90, No. 4. - P. 455-459.

98. Chemes H.E. Phenotypes of Sperm Review Pathology: Genetic and Acquired Forms in Infertile Men / H.E. Chemes // *J. Andrology.* - 2000. - Vol. 21, No. 6. - P. 799-808.

99. Chemes H.E. Sperm pathology: a step beyond descriptive morphology origin, characterization and fertility potential of abnormal sperm phenotypes in infertile men / H.E. Chemes, V.Y. Rawe // *Hum. Reprod. Update.* - 2003. – Vol.9, No 5. - P. 405-428.

100. Cheng C.Y. An intracellular trafficking pathway in the seminiferous epithelium regulating spermatogenesis: a biochemical and molecular perspective / C.Y. Cheng, D.D. Mruk // *Crit Rev Biochem Mol Biol.* - 2009. - Vol. 44, No 5. - P. 245-263.

101. Comhaire F. Human semen analysis / F. Comhaire, L. Vermeulen // *Hum. Reprod. Update.* - 1995. – Vol .6. - P.343-362.

102. Courtade M. Clinical characteristics and light and transmission electron microscopic sperm defects of infertile men with persistent unexplained asthenozoospermia / M. Courtade, C. Lagorce, L. Bujan, et al. // *Fertil. Steril.* - 1998. - Vol. 70, No. 2. - P. 297-304.



103. Davar R. Semen parameters of non-infertile smoker and non-smoker men / R. Davar, L. Sekhvat, N. Naserzadeh // *J Med Life*. – 2012. - Vol. 5, No. 4. - P. 465-468.

104. de Jong A.M. Effect of alcohol intake and cigarette smoking on sperm parameters and pregnancy / A.M. de Jong, R. Menkveld, J.W. Lens, et al. // *Andrologia*. – 2014. - Vol. 6, No. 2. - P. 112-117.

105. Delbès G. Toxicants and human sperm chromatin integrity/ G. Delbès, B.F. Hales, B. Robaire // *Mol. Hum. Reprod*. - 2010. - Vol. 16, No. 1. - P. 14-22.

106. De Iuliis G.N. Mobile phone radiation induces reactive oxygen species production and DNA damage in human spermatozoa in vitro / G.N. De Iuliis, R.J. Newey, B.V.King, et al. // *PLoS. One*. - 2009. - Vol. 31, No. 7. - P. 46-64.

107. Dimitrova D. Antichlamydial and antisperm antibodies in patients with chlamydial infections / D. Dimitrova, S. Kalaydjiev, L. Hristov, et al. // *Am J. Reprod. Immunol*. - 2004. - Vol. 52, No. 5. - P. 330-336.

108. Doble A. Diagnosis etiology and pathogenesis of abacterial prostatitis. Prostatitis Etiopathology Diagnosis and Therapy / A. Doble, D. Taylor-Robinson. - Berlin : Eds W. Weidner, 1994. - P. 229-244.

109. Dohle G.R. Androgens and male fertility / G.R. Dohle, M. Smit, R.F. Weber // *World J. Urol*. - 2003. - Vol. 21, No. 5. - P. 341-345.

110. Dousset B. Seminal cytokine concentrations (IL-1beta, IL-2, IL-6, sR IL-2, sR IL-6), semen parameters and blood hormonal status in male infertility / B. Dousset, F. Hussenet, M. Daudin, et al. // *Hum Reprod*. - 1997. - Vol. 12, No 7. - P. 1476-1479.

111. Dubé E. The blood-epididymis barrier and human male fertility / E. Dubé, D.G. Cyr // *Adv Exp Med Biol*. – 2012. – Vol. 763. - P. 218-236.

112. Dushyant Singht Gaur. Alcohol intake and cigarette smoking: Impact of two major lifestyle factors on male fertility / Dushyant Singht Gaur, Manju S Talekar, Ved Prakash Pathak // *Pathology and Microbiology*. - 2010. - Vol. 53, No. 1. - P. 35-40.

113. Eddy E.M. Fibrous sheath of mammalian Spermatozoa / E.M. Eddy, K. Toshimori // *Microsc. Res. Tech.* - 2003. - Vol. 5. - P. 103-115.

114. Edwards R.G. On the origin frequency of Y chromosome deletions respons male infertility / R.G. Edwards, C.E. Bishop // *Mol. Hum. Reprod.* - 1997. - Vol. 3, No.7. - P. 549-554.

115. Eggert-Kruse W. Role for tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) and interleukin 1-beta (IL-1beta) determination in seminal plasma during infertility investigation / W. Eggert-Kruse, I. Kiefer, C. Beck, et al. // *Fertil Steril.* - 2007. - Vol. 87, No. 4. - P. 810-823.

116. Ekwere P.D. Immunological infertility among Nigerian men: incidence of circulating antisperm auto-antibodies and some clinical observations: a preliminary report / P.D. Ekwere // *Br. J. Urol.* - 1995. - Vol. 76, No. 3. - P. 366-370.

117. Eliasson R. The immotile-cilia syndrome. A congenital ciliary abnormality as an etiologic factor in chronic airway infections and male sterility/ R. Eliasson, B. Mossberg, P. Camner, et al. // *N. Engl. J. Med.* - 1977. - Vol. 297, No. 1. - P.1-6.

118. Elshal M.F. Sperm head defects and disturbances in spermatozoal chromatin and DNA integrities in idiopathic infertile subjects: association with cigarette smoking / M.F. Elshal, I. H. El-Sayed, M.A. Elsaied, et al. // *Clin. Biochem.* - 2009. -Vol. 42, No. 7-8. - P.589-594.

119. El-Taieb M.A. Oxidative stress and epididymal sperm transport, motility and morphological defects / M.A. El-Taieb, R. Herwig, E.A. Nada, et al. // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* - 2009. - Vol. 144, No. 1. - P. 199-203.

120. Emiliozzi C. Effects of progesterone on human spermatozoa prepared for in-vitro fertilization / C. Emiliozzi, H. Cordonier, J.F. Guérin, et al. // *Int. J. Androl.* - 1996. - Vol. 19, No. 1. - P. 39-47.

121. Erdemir F. The Effect of Diet Induced Obesity on Testicular Tissue and Serum Oxidative Stress Parameters / F. Erdemir, D. Atilgan, F. Markoc, et al. // *Actas. Urol. Esp.* - 2011. - Vol. 10, No. 4. - P. 3987-3991.

122. Ergün A. Correlation of seminal parameters with serum lipid profile and sex hormones / A. Ergün, S.K. Köse, K. Aydos, et al. // Arch. Androl. - 2007. - Vol. 53, No. 1. - P.21-23.

123. Escalier D. Morphological defects of sperm flagellum implicated in human male infertility / D. Escalier, A. Touré // Med Sci (Paris). – 2012. - Vol. 28, No. 5. - P. 503-511.

124. Fariello R.M. Effect of leukocytospermia and processing by discontinuous density gradient on sperm nuclear DNA fragmentation and mitochondrial activity / R.M. Fariello, P.T. Del Giudice, D.M. Spaine, et al. // J. Assist. Reprod. Genet. - 2009. - Vol. 26, No. 2-3. - P. 151-157.

125. Fei Q. Diagnostic value of sperm DNA fragmentation for male infertility / Q. Fei, H. Huang, J. Jin, et al. // Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi. – 2014. Vol. 31, No. 1. - P. 60-64.

126. Fijak M. The testis in immune privilege / M. Fijak, A. Meinhardt // Immunol. Rev. - 2006. - Vol. 213. - P. 66-81.

127. Flörke-Gerloff S. Acrosin and the acrosome in human spermatogenesis / S. Flörke-Gerloff, E. Töpfer-Petersen, W. Müller-Esterl, et al. // Hum. Genet. - 1983. - Vol. 65, No. 1. - P. 61-70.

128. Flörke-Gerloff S. Biochemical and genetic investigation of round-headed spermatozoa in infertile men including two brothers and their father / S. Flörke-Gerloff, E. Töpfer-Petersen, W. Müller-Esterl, et al. // Andrologia. - 1984. - Vol. 16, No. 5-6. - P. 187-202.

129. Flörke-Gerloff S. On the teratogenesis of round-headed spermatozoa: investigations with antibodies against acrosin, an intraacrosomally located acrosin-inhibitor, and the outer acrosomal membrane / S. Flörke-Gerloff, W. Krause, E. Töpfer-Petersen, et al. // Andrologia. - 1985. - No. 3-4. - P. 126-138.

130. Fraczek M. Inflammatory mediators exert toxic effects of oxidative stress on human spermatozoa / M. Fraczek, M. Kurpisz // J. Androl. - 2007. - Vol. 28, No. 2. - P. 325 - 331.

131. Frankavilla F. Naturally-occurring antisperm antibodies in men: interference with fertility and implications for treatment / F. Frankavilla, R. Romano, R. Santucci // *Front. Biosci.* - 1999. - Vol. 35. - P. 19-23.

132. Freire F.R. Endocrine evaluation in infertile men with varicocele / F.R. Freire, C.R. Nahoum // *Andrologia.* - 1981. - Vol. 13, No. 5. - P. 395-404.

133. Frenette B. Macro phage migration inhibitory factor in the human epididymis and semen / B. Frenette, C. Legare, F. Saez, et al. // *Mol. Hum. Reprod.* - 2005. - Vol. 11, No. 8. - P. 575-582.

134. Friebe K. Levels of interleukin-6 and interleukin-8 in seminal fluid of men attending an andrological clinic / K. Friebe, C. Bohring, J. Skrzypek, et al. // *Andrologia.* - 2003. - Vol. 35, No. 2. - P. 126-129.

135. Forti G. Effects of progesterone on human spermatozoa: clinical implications / G. Forti, E. Baldi, C. Krausz, et al. // *Paris: Ann. Endocrinol.* - 1999. - Vol. 60, No. 2. - P. 107-110.

136. Fuse H. Acrosome-reacted sperm in infertile and fertile men using the triple-stain technique / H. Fuse, M. Okumura, M. Sakamoto, et al. // *Arch. Androl.* - 1993. - Vol. 30, No. 1-2. - P. 41-45.

137. Gallegos G. Sperm DNA fragmentation in infertile men with genitourinary infection by *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma* / G. Gallegos, B. Ramos, R. Santiso, et al. // *Fertil. Steril.* - 2008. - Vol. 90, No. 2. - P. 328-334.

138. Garrido N. Relationship among standard semen parameters, glutathione peroxidase / glutathione reductase activity, and mRNA expression and reduced glutathione content in ejaculated spermatozoa from fertile and infertile men / N. Garrido, M. Meseguer, J. Alvarez, et al. // *Fertil Steril.* - 2004. - Vol. 8. (Suppl.3). - P.1059-1066.

139. Gaur D.S. Alcohol intake and cigarette smoking: Impact of two major lifestyle factors on male fertility / D.S. Gaur, M.S. Talekar, V.P. Pathak // *Pathology and Microbiology.* - 2010. - Vol. 1. - P. 35-40.

140. Gaur D.S. Effect of cigarette smoking on semen quality of infertile men / D.S. Gaur, M. S. Talekar, V.P Pathak // Singapore Med. J. - 2007. - Vol. 48, No. 2. - P.119-123.

141. Gdoura R. Assessment of *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, and *Mycoplasma genitalium* in Semen and First Void Urine Specimens of Asymptomatic Male Partners of Infertile Couples / R. Gdoura, W. Kchaou, L. Ammar-Keskes, et al. // J. Andrology. - 2008. - Vol.29, No. 2. - P.198-206.

142. Gdoura R. *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* infections and semen quality of infertile men / R. Gdoura, W. Kchaou, C. Chaary, et al. // BMC Infections Diseases. - 2007. - Vol. 7. - P. 127-129.

143. Gerhard I. Hormone load tests in infertile male patients / I. Gerhard, H.K. Lenhard, W. Eggert-Kruse, et al. // Arch. Androl. - 1991. - Vol.27, No.3. - P.129-147.

144. Gibbons I.R. Cilia and Flagella of Eukaryotes / I.R. Gibbons // J. Cell Biology. - 1981. - Vol. 12. - P. 107-124.

145. Gilbert B.R. Correlation of sperm-bound immunoglobulins with impaired semen analysis in infertile men with varicoceles / B.R. Gilbert, S.S. Witkin, M. Goldstein // Fertil. Steril. - 1989. - Vol. 52, No. 3. - P. 469-473.

146. Girgis S.M. 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, No. 3. - P. 267- 271.

147. Gonzales G.F. Hypoprolactinemia as related to seminal quality and serum testosterone / G.F. Gonzales, G. Velasquez, M. Garcia-Hjarles // Arch. Androl. - 1989. - Vol. 23, No. 3. - P. 259-265.

148. Goldstein M. Induction of spermatogenesis and pregnancy after microsurgical varicocelectomy in azoospermic men / M. Goldstein, G.J. Matthews // Urol. - 1996. - P. 443-445.

149. Golomb J. Demonstration of antispermatozoal antibodies in varicocele-related infertility with an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) / J. Golomb, N. Vardinon, et al. // *Fertil. Steril.* - 1986. - Vol. 45, No. 3. - P. 397-402.

150. Gorbachinsky I. Metabolic syndrome and urologic diseases / I. Gorbachinsky, H. Akpınar, D.G. Assimos // *Rev Urol.* - 2010. - Vol. 12, No. 4. - P. 157-180.

151. Gowri V. 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, No. 3. - P.50- 53.

152. Gruschwitz M.S. Cytokine levels in the seminal plasma of infertile males / M.S. Gruschwitz, R. Brezinschek, H.P. Brezinschek // *J. Androl.* - 1996. - Vol. 17, No. 2. - P. 158-163.

153. Guido C. Human sperm anatomy and endocrinology in varicocele: role of androgen receptor / C. Guido, M. Santoro, F. De Amicis, et al. // *Reproduction.* - 2014. - Vol. 147, No. 5. - P. 589-598.

154. Gutschi T. Impact of cell phone use on men's semen parameters / T. Gutschi, B. Mohamad Al-Ali, R. Shamloul, et al. // *Andrologia.* - 2011. - Vol. 43, No. 5. - P. 312-316.

155. Gvozdjakova A. Importance of the assessment of coenzyme Q10, alpha-tocopherol and oxidative stress for the diagnosis and therapy of infertility in men / A. Gvozdjakova, J. Kucharska, J. Lipkova, et al. // *Bratisl Lek Listy.* - 2013. - Vol. 114, No. 11. - P. 607-609.

156. Hadi H.A. Alcohol and reproductive function: a review / H.A. Hadi, J.A. Hill, R.A. Castillo // *Obstet. Gynecol. Surv.* - 1987. - Vol. 42, No. 2. - P. 69-74.

157. Hammadeh M. Protamine contents and P1/P2 ratio in human spermatozoa from smokers and non-smokers / M. Hammadeh, M. Hamad, M. Montenarh, et al. // *Hum. Reprod.* - 2010. - Vol. 25, No. 11. - P. 2708-2720.

158. Han Y. Comparing expression of progesterone and estrogen receptors in testicular tissue from men with obstructive and nonobstructive azoospermia / Y. Han, H.L. Feng, J.I. Sandlow, et al. // *J. Androl.* - 2009. - Vol. 30, No. 2. - P.127-133.

159. Handelsman D.J. Prevalence, testicular function and seminal parameters in men with sperm antibodies / D.J. Handelsman, A.J. Conway, I. Radonic, et al. // *Clin. Reprod. Fertil.* - 1983. - Vol. 2, No. 1. - P. 39-45.

160. Hargreave T.B. Estradiol and male Fertility / T.B. Hargreave, R.A. Elton, V.M. Sweeting, et al. // *Fertil. Steril.* - 1988. - Vol. 49, No. 5. - P. 871-875.

161. Hedger M.P. Cytokines and the immune-testicular axis / M.P. Hedger, A. Meinhardt // *J. Reprod. Immunol.* - 2003. - Vol. 58. - P. 1-26.

162. Hedger M.P. Local regulation of T cell numbers and lymphocyte-inhibiting activity in interstitial tissue of the adult rat testis / M.P. Hedger, A. Meinhardt // *J. Reprod. Immunol.* - 2000. - Vol. 48, No. 2. - P. 69-80.

163. Hofmann N. Use of aniline blue to assess chromatin condensation in morphologically normal spermatozoa in normal and infertile men / N. Hofmann, B. Hilscher // *Hum. Reprod.* - 1991. - Vol. 6, No. 7. - P. 979-982.

164. Hofny E.R. Semen parameters and profile in obese fertile and infertile males / E.R. Hofny, M.E. Ali, H.Z. Abdel-Hafez, et al. // *Fertil. Steril.* - 2010. - Vol. 94, No. 2. P. 581-584.

165. Hosseinzadeh Colagar A. Correlation of sperm parameters with semen lipid peroxidation and total antioxidants levels in astheno- and oligoasthenoteratospermic men / A. Hosseinzadeh Colagar, F. Karimi, S.G. Jorsaraei // *Iran Red Crescent Med J.* – 2013. – Vol. 15, No. 9. - P. 780-785.

166. Huang P.L. A comprehensive definition for metabolic syndrome / P.L. Huang // *Dis Model Mech.* - 2009. - Vol. 2, No. 5-6. - P.231-237.

167. Huleihel M. Distinct expression levels of cytokines and soluble cytokine receptors in seminal plasma of fertile and infertile men / M. Huleihel, E. Lunenfeld, A. Levy, et al. // *Fertil Steril.* - 1996. - Vol .66, No.1. - P. 135-139.

168. Huleihel M. Regulation of spermatogenesis by paracrine/autocrine testicular factors / M. Huleihel, E. Lunenfeld // Asian J Androl. - 2004. - Vol. 6, No. 3. - P. 259-268.

169. Hurtado de Catalfo G.E. Oxidative stress biomarkers and hormonal profile in human patients undergoing varicocelelectomy / G.E. Hurtado de Catalfo, A. Ranieri-Casilla, F.A. Marra, et al. // Int. J. Androl. - 2007. - Vol. 30, No. 6. - P. 519-530.

170. Hutson J.C. Testicular macrophages / J.C. Hutson // Int. Rev. Cytol. - 1994. - Vol. 149. - P. 99-143.

171. Imade G.E. Immunosuppressive activities in the seminal plasma of infertile men: relationship to sperm antibodies and autoimmunity / G.E. Imade, H.W. Baker, D.M. de Kester, et al. // Hum. Reprod. - 1997. - Vol. 12, No. 2. - P. 256-262.

172. Imudia A. N. The prevalence of *ureaplasma urealyticum*, *mycoplasma hominis*, *chlamydia trachomatis* and *neisseria gonorrhoeae* infections, and the rubella status of patients undergoing an initial infertility evaluation / A.N. Imudia, L. Detti, E. Puscheck, et al. // J. Assist. Reprod. Genet. - 2008. - Vol. 25, No. 1. - P. 43-46.

173. Irvine D.S. Seminal fluid analysis and sperm function testing / D.S. Irvine, R.J. Aitken // Endocrinol. Metab. Clin. North. Am. - 1994. - Vol. 12. - P. 725-748.

174. Itman C. All in the family: TGF- beta family action in testis development / C. Itman, S. Mendis, B. Barakat, et al. // Reproduction. - 2006. - Vol. 132, No. 2. - P. 177-178.

175. Jacobo P. Testicular autoimmunity / P. Jacobo, V.A. Guazzone, M.S. Theas, et al. // Autoimmun Rev. - 2011. - Vol. 10, No. 4. - P. 201-204.

176. Jaiswal D. Association of interleukin-1beta C+3953T gene polymorphism with human male infertility / D. Jaiswal, S. Trivedi, N.K. Agrawal, et al. // Syst Biol Reprod Med. - 2013. - Vol. 59, No. 6. - P. 347-351.



177. Jarow H., Coburn M., Sigman M. Incidence of varicoceles in men with primary and secondary infertility / H. Jarow, M. Coburn, M. Sigman // *Urology*. - 1996. - Vol. 47, No. 1. - P. 73-76.
178. Kalousek D.K. Pathology of abortion: chromosomal and genetic correlations / D.K. Kalousek // *Monogr. Pathol.* - 1991. - Vol. 33. - P. 228-256.
179. Kalyani R.R., Dobs A.S. Androgen deficiency, diabetes and the metabolic syndrome in men / R.R. Kalyani, A.S. Dobs // *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* - 2007. - Vol. 14, No. 3. - P. 226-234.
180. Kapoor D. The effect of testosterone replacement therapy on adipocytokines and C-reactive protein in hypogonadal men with type 2 diabetes / D. Kapoor, S. Clarke, R. Stanworth, et al. // *Eur J Endocrinol.* - 2007. - Vol. 165, No. 5. - P. 595-602.
181. Kasturi S. The metabolic syndrome and male infertility / S. Kasturi, J. Tannir, R.F. Brannigan // *J. Androl.* - 2008. - Vol. 29, No. 3. - P. 251-259.
182. Khan M.S. Simultaneous analysis of the three hormones involved in spermatogenesis and their interrelation ratios / M.S. Khan, I. Ali, F. Tahir, et al. // *Pak. J. Pharm. Sci.* - 2008. - Vol. 21, No. 4. - P. 344-349.
183. Kliesch S. Testosterone and infertility / S. Kliesch // *Urologe A.* - 2010. - Vol. 49, No. 1. - P. 32-36.
184. Kocber O. Krankheiten der mannlichen geschlechtsorgane / O. Kocber // *Stuttgart.* - 1887. - P. 195-206.
185. Kopa Z. Role of granulocyte elastase and interleukin-6 in the diagnosis of male genital tract inflammation / Z. Kopa, J. Wenzel, G.K. Papp, et al. // *Andrologia.* - 2005. - Vol. 37, No. 5. - P. 188-194.
186. Kopera I.A. Sertoli-germ cell junctions in the testis: a review of recent data / I.A. Kopera, B. Bilinska, C.Y. Cheng, et al. // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* - 2010. - Vol. 27, No. 365. - P. 1593-1605.
187. Korteбani G. Leucocyte populations in semen and male accessory gland function: relationship with antisperm antibodies and seminal quality /

G. Kortebani, G.F. Gonzales, C. Barrera, et al. // *Andrologia*. - 1992. - Vol. 24, No. 4. - P.197 - 204.

188. Koşar P.A. Cytogenetic abnormalities detected in patients with non-obstructive azoospermia and severe oligozoospermia / P.A. Koşar, N. Özçelik, A. Koşar // *J. Assist. Reprod. Genet.* - 2010. - Vol. 27, No. 1. - P.17-21.

189. Kotwicka M. Expression of progesterone membrane receptor in spermatozoa from normozoospermic and oligozoospermic men / M. Kotwicka, J.B. Warchoń // *Folia Histochem. Cytobiol.* - 2001. - Vol. 39, No. 2. - P.139-140.

190. Krajewska-Kulak E. Thyroid function in male infertility / E. Krajewska-Kulak, P. Sengupta // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2013. - Vol. 13, No. 4. – P. 174.

191. Krassas G.E. Thyroid function and human reproductive health / G.E. Krassas, K. Poppe, D. Glinoer // *Endocr. Rev.* - 2010. - Vol. 31, No. 5. - P. 702-755.

192. Kucheria K. Semen analysis in alcohol dependence Syndrome / K. Kucheria, R. Saxena, D. Mohan // *Andrologia*. - 1985. - Vol. 17, No. 6. - P. 558-563.

193. Kullisaar T. Oxidative stress in leucocytospermic prostatitis patients: preliminary results / T. Kullisaar, S. Turk, M. Punab // *Andrologia*, 2008. - Vol. 40, No. 3. - P. 161-172.

194. Kumar R. Oxidative stress and sperm mitochondrial DNA mutation in idiopathic oligoasthenozoospermic men / R. Kumar, S. Venkatesh, M. Kumar, et al. // *Indian J. Biochem. Biophys.* - 2009. - Vol. 46, No. 2. - P. 172-177.

195. Kupelian V. Inverse association of testosterone and the metabolic syndrome in men is consistent across race and ethnic groups / V. Kupelian, F.J. Hayes, C.L. Link // *J Clin Endocrinol Metab.* - 2008. - Vol. 93, No 9. - P. 3403-3410.

196. Laaksonen D.E. Sex hormones, inflammation and the metabolic syndrome: a population-based study / D.E. Laaksonen, L. Niskanen, K. Punnonen, et al. // *Eur J Endocrinol.* – 2003. - Vol. 149, No. 6. - P. 601-608.

197. Lancellotti T.E.S. Hypercholesterolemia Impaired Sperm Functionality in Rabbits / T.E.S. Lancellotti, P.V. Boarelli, A. Maria, et al. // PLoS. One. - 2010. - No. 10.
198. La Vignera S. Diabetes mellitus and sperm Parameters / S. La Vignera, R. Condorelli, E. Vicari, et al. // J Androl. - 2012. - Vol. 33, No. 2. - P.145-153.
199. La Vignera S. Markers of semen inflammation: supplementary semen analysis? / S. La Vignera, R.A. Condorelli, E. Vicari, et al. // J Reprod Immunol. – 2013. – Vol. 100, No. 1. – P. 2-10.
200. La Vignera S. Microbiological investigation in male infertility: a practical overview / S. La Vignera, R.A. Condorelli, E. Vicari, et al. // J Med Microbiol. – 2014. - Vol. 63, No. 1. - P. 1-14.
201. Lee M.J. Integration of hormonal and nutrient signals that regulate leptin synthesis and secretion / M.J. Lee, S.K. Fried // Am J Physiol Endocrinol Metab. - 2009. - Vol. 296, No. 6. - P. 1230-1238.
202. Leisegang K. Effect of the metabolic syndrome on male reproductive function: a case-controlled pilot study / K. Leisegang, A. Udodong, P.J. Bouic, et al. // Andrologia. – 2014. - Vol. 46, No. 2. – P. 167-176.
203. Li M.W. Cytokines and junction restructuring events during spermatogenesis in the testis: an emerging concept of regulation / M.W. Li, D.D. Mruk, W.M. Lee, et al. // Cytokine Growth Factor Rev. - 2009. - Vol. 20, No. 4. - P. 329-338.
204. Lie P.P. Coordinating cellular events during spermatogenesis: a biochemical model / P.P. Lie, C.Y. Cheng, D.D. Mruk // Trends Biochem Sci. - 2009. - Vol. 34, No. 7. - P. 366-373.
205. Lie P.P. Cytoskeletal dynamics and spermatogenesis / P.P. Lie, D.D. Mruk, W.M. Lee, et al. // Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. - 2010. - Vol. 27, No. 365. - P. 1581-1592.
206. Liu D.Y. Evaluation and assessment of semen for IVF/ICSI / D.Y. Liu, H.W. Baker // Asian J. Androl. - 2002. - Vol. 4, No. 4. - P. 281-285.

207. Liu J. Successful fertilization and establishment of pregnancies after intracytoplasmic sperm injection in patients with globozoospermia / J. Liu, Z. Nagy, H. Joris, et al. // *Hum. Reprod.* - 1995. - Vol. 10. - P. 626-629.

208. Liu R.Z. Molecular genetic mechanisms of teratozoospermia / R.Z. Liu, J. Wu, R.X. Wang // *Zhonghua Nan Ke Xue.* – 2013. – Vol. 19, No. 12. – P. 1059-1067.

209. Lombardo F. Androgens and fertility / F. Lombardo, P. Sgrò, P. Salacone, et al. // *J. Endocrinol. Invest.* - 2005. - Vol. 28, No. 3. - P. 51-55.

210. Lotti F. Seminal, ultrasound and psychobiological parameters correlate with metabolic syndrome in male members of infertile couples / F. Lotti, G. Corona, S. Degli Innocenti, et al. // *Andrology.* – 2013. - Vol. 1, No. 2. - P. 229-239.

211. Lui W. Y. Regulation of cell junction dynamics by cytokines in the testis: a molecular and biochemical perspective / W. Y. Lui, C.Y. Cheng // *Cytokine Growth Factor Rev.* - 2007. - Vol. 18, No. 3-4. - P. 299-311.

212. Lunglmayr G. Value of prolactin determination in oligozoospermia / G. Lunglmayr, J. Spona // *Helv. Chir. Acta.* - 1981. - Vol. 48, No. 3-4. - P. 503-505.

213. 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, No. 8. - P. 704-709.

214. Madar J. Role of sperm antibodies and cellular autoimmunity to sperm in the pathogenesis of male infertility / J. Madar, V. Urbanek, A. Chaloupkova, et al. // *Ceska Gynekol.* - 2002. - Vol. 67, No. 1. - P. 3-7.

215. Maegawa M. A repertoire of cytokines in human seminal Plasma / M. Maegawa, M. Kamada, M. Irahara // *J. Reprod. Immunol.* - 2002. - Vol. 54. - P. 3-42.

216. Maqdasy S. Cholesterol and male fertility: what about orphans and adopted? / S. Maqdasy, M. Baptissart, A. Vega, et al. // *Mol Cell Endocrinol.* – 2013. - Vol. 368, No. 1-2. - P. 30-46.

217. Mancini A. Hormonal Regulation of Total Antioxidant Capacity in Seminal Plasma / A. Mancini, R. Festa, A. Silvestrini, et al. // *J. Andrology*. - 2009. - Vol. 30, No. 5. - P. 534-540.

218. Marcus Z.H. Seminal plasma as local modulator of the immune Response / Z.H. Marcus, E.V. Hess // *Biol. Reprod.* - 1990. - No. 22. - P. 95.

219. Marcus Z.H. The importance of male inhibitory material in human reproduction / Z.H. Marcus // *J. Reprod. Immunol.* - 1983. - No. 5. - P. 95.

220. Matalliotakis I. Interleukin-6 in seminal plasma of fertile and infertile men / I. Matalliotakis, D. Kiriakou, I. Fragouli, et al. // *Arch Androl.* - 1998. - Vol. 41, No. 1. - P. 43-50.

221. Mathur S. Sperm antibodies and histocompatibility in couples with early spontaneous abortion / S. Mathur, M.R. Neff, H.O. Williamson // *Fertil. Steril.* - 1984. - No. 41. - P. 75-78.

222. Meeker J.D. Relationships between serum hormone levels and semen quality among men from an infertility clinic / J.D. Meeker, L. Godfrey-Bailey, R. Hauser // *J. Androl.* - 2007 - Vol. 28, No. 3. - P. 397-406.

223. Meeker J.D. Serum concentrations of estradiol and free T4 are inversely correlated with sperm DNA damage in men from an infertility clinic / J.D. Meeker, N.P. Singh, R. Hauser // *J. Androl.* - 2008. - Vol. 29, No. 4. - P. 379-388.

224. Meinhardt A. Immunological, paracrine and endocrine aspects of testicular immune privilege / A. Meinhardt, M.P. Hedger // *Mol Cell Endocrinol.* - 2011. - Vol. 15, No. 335. - P. 60-68.

225. Mennicke K. Molecular cytogenetic diagnostics in Sperm / K. Mennicke, P. Diercks, H. Schlieker, et al. // *Int. J. Androl.* - 1997. - Vol. 20, No. 3. - P. 11-19.

226. Merino G. Hyperprolactinemia in men with asthenozoospermia, oligozoospermia, or azoospermia / G. Merino, S. Carranza-Lira, J.C. Martinez-Chéquer, et al. // *Arch. Androl.* - 1997. - Vol. 38, No. 3. - P. 201-206.

227. Meschede D. Sex chromosomal anomalies in pregnancies conceived through intracytoplasmic sperm injection: a case for genetic counseling / D. Meschede, J. Horst // *Hum. Reprod.* - 1997. - Vol. 12, No. 6. - P. 1125-1127.

228. Michalakis K. The complex interaction between obesity, metabolic syndrome and reproductive axis: a narrative review / K. Michalakis, G. Mintziori, A. Kaprara, et al. // *Metabolism.* – 2013. - Vol. 62, No. 4. - P. 457-478.

229. Mičić S. Correlation of hormone and histologic parameters in infertile men with varicocele / S. Mičić, V. Illić, M. Išvaneski // *Urol. Int.* - 1983. - Vol. 38, No. 3. - P. 187-190.

230. Mičić S. Seminal plasma hormone profile in infertile men with and without varicocele / S. Mičić, R. Dotlić, V. Ilić, et al. // *Arch. Androl.* - 1986. - Vol. 17, No. 3. - P. 173-178.

231. Mital P. The blood-testis and blood-epididymis barriers are more than just their tight junctions / P. Mital, B.T. Hinton, J.M. Dufour // *Biol Reprod.* - 2011. - Vol. 84, No. 5. - P. 851-858.

232. Moskovtsev S.I. Frequency and severity of sperm DNA damage in patients with confirmed cases of Male infertility of different aetiologies / S.I. Moskovtsev, J.B. Mullen, I. Lecker, et al. // *Reprod. Biomed. Online.* - 2010. - Vol. 20, No. 6. – P. 759-763.

233. Mostafa T. Effect of smoking on seminal plasma ascorbic acid in infertile and fertile males / T. Mostafa, G. Tawadrous, M.M. Roaia. et al. // *Andrologia.* - 2006. - Vol. 38, No. 6. - P.221-224.

234. Motrich R.D. Reduced semen quality in chronic prostatitis patients that have cellular autoimmune response to prostate antigens / R.D. Motrich, M. Naccioni, R. Molina, et al. // *Hum. Reprod.* - 2005. - Vol. 20, No. 9. - P. 2567-2572.

235. Muthusami K.R. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality / K.R. Muthusami, P. Chinnaswamy // *Fertil. Steril.* - 2005. - Vol. 84, No. 4. - P. 919-924.

236. Nallella K.P. Relationship of interleukin-6 with semen characteristics and oxidative stress in patients with varicocele / K.P. Nallella, S.S. Allamaneni, F.F. Pasqualotto, et al. // *Urology*. - 2004. - Vol. 64, No. 5. - P.1010-1013.

237. Naz R.K. Interleukin-6 enhances the fertilizing capacity of human sperm by increasing capacitation and acrosome reaction / R.K. Naz, P. Kaplan // *J Androl*. - 1994. - Vol. 15, No. 3. - P. 228-233.

238. Nikolettos N. Fertilization potential of spermatozoa with abnormal morphology / N. Nikolettos, W. Küpker, C. Demirel, et al. // *Hum. Reprod*. - 1999. - Vol. 14, No. 1. - P. 47-70.

239. Nolten W.E. Association of elevated estradiol with remote testicular trauma in young infertile men / W.E. Nolten, S.P. Viosca, S.G. Korenman, et al. // *Fertil. Steril*. - 1994. - Vol. 62, No. 1. - P. 143-149.

240. Nordkap L. Male infertility / L. Nordkap, E. Carlsen, J. Fedder, et al. // *Ugeskr Laeger*. - 2012. - Vol. 174, No. 41. - P. 2444-2448.

241. Ochedalski T. Evaluating the effect of smoking tobacco on some semen parameters in men of reproductive age / T. Ochedalski, A. Lachowicz-Ochedalska, W. Dec, et al. // *Ginekol. Pol*. - 1994. - Vol. 65, No. 2. - P. 80-86.

242. Ochedalski T. Examining the effects of tobacco smoking on levels of certain hormones in serum of young men / T. Ochedalski, A. Lachowicz-Ochedalska, W. Dec, et al. // *Ginekol. Pol*. - 1994. - Vol. 65, No. 2. - P. 87-93.

243. Ochsenkuhn R. The relationship between immunosuppressive activity and immunoregulatory cytokines in seminal plasma: influence of sperm autoimmunity and seminal leukocytes / R. Ochsenkuhn, A.E. O Connor, J.J. Hirst // *J. Reprod. Immunol*. - 2006. - Vol. 71, No. 1. - P. 57-74.

244. Ohl D.A. Infertility due to antisperm antibodies / D.A. Ohl, R.K. Naz // *Urology*. - 1995. - Vol. 46, No. 4. - P. 591-602.

245. Omran H.M. DNA integrity is a critical molecular indicator for the assessment of male infertility / H.M. Omran, M. Bakhiet, M.G. Dashti // *Mol Med Rep*. - 2013. - Vol. 7, No. 5. - P. 1631-1635.

246. Omu A.E. Treatment of asthenozoospermia with zinc sulphate: andrological, immunological and obstetric outcome / A.E. Omu, H. Dashti, S. Al-Othman // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. - 1998. - Vol. 79, No. 2. - P. 179 – 184.
247. Ouvrier A. Dietary cholesterol-induced post-testicular infertility / A. Ouvrier, G. Alves, C. Damon-Soubeyrand, et al. // PLoS. One. - 2011. - Vol. 6. - No. 11.
248. Padrón R.S. Lipids and testicular function / R.S. Padrón, J. Más, R. Zamora, et al. // Int. Urol. Nephrol. - 1989. - Vol. 21, No. 5. - P. 515-519.
249. Pahune P.P. The total antioxidant power of semen and its correlation with the fertility potential of human male subjects / P.P. Pahune, A.R. Choudhari, P.A. Muley // J Clin Diagn Res. – 2013. - Vol. 7, No. 6. – P. 991-995.
250. Pannekoek Y. Cytokine concentrations in seminal plasma from subfertile men are not indicative of the presence of *Ureaplasma urealyticum* or *Mycoplasma hominis* in the lower genital tract / Y. Pannekoek, J.W. Trum, O.P. Bleker, et al. // J Med Microbiol. - 2000. - Vol. 49, No. 8. - P. 697-700.
251. Papadimas J. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha in normal/infertile men / J. Papadimas, D.G. Goulis, et al. // Arch. Androl. - 2002. - Vol. 2, No. 2. - P. 107- 113.
252. Paradisi R. T-helper 2 type cytokine and soluble interleukin-2 receptor levels in seminal plasma of infertile men / R. Paradisi, R. Mancini, E. Bellavia, et al. // Am J Reprod Immunol. - 1997. - Vol. 38, No. 2. - P. 94-99.
253. Pasqualotto F.F. Semen quality and oxidative stress scores in fertile and infertile patients with varicocele / F.F. Pasqualotto, A. Sundaram, R.K. Sharma, et al. // Fertil. Steril. - 2008. - Vol. 89, No. 3. - P. 602-607.
254. Perdrix A. Motile sperm organelle morphology examination (MSOME) and sperm head vacuoles: state of the art in 2013 / A. Perdrix, N. Rives // Hum Reprod Update. – 2013. – Vol. 19, No. 5. - P. 527-541.



255. Perez-Crespo M. Scrotal heat stress effects on sperm viability, sperm DNA integrity, and the offspring sex ratio in mice / M. Perez-Crespo, B. Pintado, A. Gutierrez-Adan // Mol Reprod Dev. - 2008. - Vol. 75, No. 1. - P.40-47.

256. Perrin A. DNA fragmentation is higher in spermatozoa with chromosomally unbalanced content in men with a structural chromosomal rearrangement / A. Perrin, M.H. Nguyen, L. Bujan, et al. // Andrology. – 2013. – Vol. 1, No. 4. - P. 632-638.

257. Pilatz A. Seminal cytokines: is quantification useful in urogenital disorders? / A. Pilatz, C. Hudemann, F. Wagenlehner, et al. // Urologe A. – 2013. - Vol. 52, No. 3. - P. 359-366.

258. Piomboni P. Chromosomal aberrations and aneuploidies of spermatozoa / P. Piomboni, A. Stendardi, L. Gambera // Adv Exp Med Biol. – 2014. - Vol. 791. – P. 27-52.

259. Pons-Rejraji H. Role of reactive oxygen species (ROS) on human spermatozoa and male infertility / H. Pons-Rejraji, B. Sion, F. Saez, et al. // Gynecol. Obstet. Fertil. - 2009. - Jun. - Vol. 37, No. 6. - P. 529-535.

260. Potts J.M. Association of *Ureaplasma urealyticum* with abnormal reactive oxygen species levels and absence of leukocytospermia / J.M. Potts, R. Sharma, F. Pasqualotto, et al. // J. Urol. - 2000. - Vol. 163, No. 6. - P.1775-1778.

261. Pusch H.H. Serum progesterone patterns in male Subfertility / H.H. Pusch, W. Hönlgl, J. Haas, et al. // Andrologia. - 1985. - Vol. 17, No. 4. - P. 359-363.

262. Ramanujam L.N. Association of molecular variants of luteinizing hormone with male infertility / L.N. Ramanujam, W.X. Liao, A.C. Roy, et al. // Hum. Reprod. - 2000. - Vol. 15, No.4. - P. 925-928.

263. Ramírez-Torres M.A. High incidence of hyperestrogenemia and dyslipidemia in a group of infertile men / M.A. Ramírez-Torres, A. Carrera, M. Zambrana // Ginecol. Obstet. Mex. - 2000. - Vol. 68. - P. 224-229.

264. Rato L. High-energy diets may induce a pre-diabetic state altering testicular glycolytic metabolic profile and male reproductive parameters / L. Rato, M.G. Alves, T.R. Dias, et al. // Andrology. – 2013. - Vol. 1, No. 3. - P. 495-504.

265. Rato L. Metabolic regulation is important for spermatogenesis / L. Rato, M.G. Alves, S. Socorro, et al. // Nat Rev Urol. – 2012. – Vol. 9, No. 6. - P. 330-338.

266. Roessner C. Sperm apoptosis signalling in diabetic men / C. Roessner, U. Paasch, J. Kratzsch, et al. // *Reprod Biomed Online*. – 2012. - Vol. 25, No. 3. - P. 292-299.

267. Rusz A. Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility / A. Rusz, A. Pilatz, F. Wagenlehner, et al. // *World J Urol*. – 2012. – Vol. 30, No. 1. - P. 23-30.

268. Ruwanpura S.M. Hormonal regulation of male germ cell development / S.M. Ruwanpura, R.I. McLachlan, S.J. Meachem // *J. Endocrinol*. - 2010. - Vol. 205, No. 2. - P. 117-131.

269. Rybar R. The effect of bacterial contamination of semen on sperm chromatin integrity and standard semen parameters in men from infertile couples / R. Rybar, P. Prinosilova, V. Kopecka, et al. // *Andrologia*. - 2011. - P. 1398-1404.

270. Sahin Z. Increased expression of interleukin-1alpha and interleukin-1beta is associated with experimental varicocele / Z. Sahin, C. Celik-Ozenci, G. Akkoyunlu, et al. // *Fertil Steril*. – 2006. - Vol. 85. - Suppl 1. - P.1265-1275.

271. Sahoo D.K. Hypothyroidism impairs antioxidant defence system and testicular physiology during development and maturation / D.K. Sahoo, A. Roy, S. Bhanja, et al. // *Gen. Comp. Endocrinol*. - 2008. - Vol. 156, No. 1. - P. 63-70.

272. Sanocka D. Male genital tract inflammation: The role of selected interleukin inregulation of pro-oxidant and antioxidant enzymatic substances in seminal plasma / D. Sanocka, P. Jedrzejczak, A. Szumala-Kaekol, et al. // *J Androl*. - 2003. - Vol. 24, No. 3. - P. 448-455.

273. Sarkar O. Impact of inflammation on male Fertility / O. Sarkar, J. Bahrainwala, S. Chandrasekaran, et al. // *Front Biosci (Elite Ed)*. - 2011. – No. 3. - P. 89-95.

274. Sathananthan A.H. Functional competence of abnormal spermatozoa / A.H. Sathananthan // *Baillieres Clin. Obstet. Gynaecol*. - 1994. - Vol. 8, No. 1. - P. 141-156.

275. Sathananthan A.H. Human centriole: origin, & how it impacts fertilization, embryogenesis, infertility & cloning / A.H. Sathananthan // *Indian J. Med. Res*. - 2009. - Vol. 129, No. 4. - P. 348-350.

276. Sathananthan A.H. The sperm centriole: its inheritance, replication and perpetuation in early human embryos / A.H. Sathananthan, S.S. Ratnam, J.J. Tarin, et al. // *Fertil. Steril*. - 2001. - Vol. 63. - P. 479-483.

277. Schaffer J.E. Lipotoxicity: when tissues overeat / J.E. Schaffer // *Curr Opin Lipidol.* - 2003. - Vol. 14, No. 3. - P. 281-287.

278. Schlatt S. Paracrine regulation of cellular interactions in the testis: factors in search of a function / S. Schlatt, A. Meinhardt, E. Nieschlag // *Eur. J. Endocrinol.* - 1997. - Vol. 137. - P.107-117.

279. Schumacher G.F. Immunology of spermatozoa and cervical mucus / G.F. Schumacher // *Hum. Reprod.* - 1988. - Vol. 3, No. 3. - P. 289-300.

280. Segnini A. *Chlamydia trachomatis* and sperm lipid peroxidation in infertile men / A. Segnini, M.I. Camejo, F. Proverbio // *Asian J. Androl.* - 2003. - Vol. 5, No. 1. - P.47-49.

281. Seshadri S. The role of cytokine expression in different subgroups of subfertile men / S. Seshadri, M. Bates, G. Vince, et al. // *Am J Reprod Immunol.* - 2009. - Vol. 62, No. 5. - P. 275-282.

282. Sevilla Ruiz A. Serum concentrations of estradiol and testosterone in patients with oligoasthenozoospermia and asthenozoospermia / A. Sevilla Ruiz, C. Moya Gordillo, G. Lili, et al. // *Ginecol. Obstet. Mex.* - 1991. - Vol. 59. - P.313-315.

283. Shamsi M. B. Mitochondrial DNA Mutations in etiopathogenesis of male infertility / M. B. Shamsi, R. Kumar, A. Blatt, et al. // *J. Urol.* - 2008. - Vol. 24, No.2. - P.150–154.

284. Sharpe R.M. The roles of oestrogen in the male / R.M. Sharpe // *Trends Endocrinol. Metab.* - 1998. - Vol. 9, No. 9. - P. 371-377.

285. Sheriff D.S. Perspective on plasma membrane cholesterol efflux and spermatozoal function / D.S. Sheriff, E.F. Ali // *J. Hum. Reprod. Sci.* - 2010. - Vol. 3, No. 2. - P. 68-75.

286. Sheweita S.A. Mechanisms of male infertility: role of antioxidants / S.A. Sheweita, A.M. Tilmisany, H. Al-Sawaf // *Curr. Drug. Metab.* - 2005. - Vol.6, No. 5. - P. 495-501.

287. Shibahara H. Diversity of the inhibitory effects on fertilization by antisperm antibodies bound to the surface of ejaculated human sperm / H. Shibahara, Y. Shiraishi, Y. Hirano, et al. // *Hum. Reprod.* - 2003. - Vol. 18, No. 7. - P. 1469-1473.

288. Shimizu A. Microdeletions in the Y chromosome of patients with idiopathic azoospermia / A. Shimizu, T. Ichikawa, N. Suzuki, et al. // *Asian J. Androl.* - 2002. - Vol.4, No. 2. - P.111-115.

289. Shimoya K. Detection of monocyte chemotactic and activating factor (MCAF) and interleukin (IL)-6 in human seminal plasma and effect of leukospermia on these cytokine levels / K. Shimoya, N. Matsuzaki, N. Ida // *Am J Reprod Immunol.* - 1995. - Vol. 34, No. 5. - P. 311-316.
290. Simoni M. Role of FSH in male gonadal Function / M. Simoni, G.F. Weinbauer, J. Gromoll, et al. // *Paris. : Ann Endocrinol.* - 1999. - Vol. 60, No. 2. - P.102-106.
291. Simons K. Cholesterol, lipid rafts and disease / K. Simons, R. Eehalt // *J. Clin. Invest.* - 2002. - Vol. 110, No. 5. - P. 597-603.
292. Singer R. Oligozoospermia, asthenozoospermia, and sperm abnormalities in ex-addict to heroin, morphine, and hashish / R. Singer, M. Ben-Bassat, Z. Malik, et al. // *Arch. Androl.* - 1986. - Vol. 16, No. 2. - P.167-174.
293. Singh G. Ultrastructural features of round-headed human spermatozoa / G. Singh // *Int. J. Fertil.* - 1992. - Vol. 37, No. 2. - P. 99-102.
294. Soares S.R. Cigarette smoking and reproductive function / S.R. Soares, M.A. Melo // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* - 2008. - Vol. 20, No. 3. - P. 281-291.
295. Soufir J.C. Azoospermia, asthenozoospermia and seminal biochemistry / J.C. Soufir // *Paris. - Ann. Biol. Clin.* - 1985. - Vol. 43, No. 1. - P. 67-70.
296. Srikanthan P. Relative muscle mass is inversely associated with insulin resistance and prediabetes / P. Srikanthan, A.S. Karlamangla // *Findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. J Clin Endocrinol Metab.* - 2011. - Vol. 96, No. 9. - P. 2898-2903.
297. Stephen J. Current Status of Testosterone Replacement Therapy in Men / J. Stephen // *MD Arch. Fam. Med.* - 1999. - Vol. 8. - P. 257-263.
298. Sun Z.M. Ultrastructure and function of mitochondria in idiopathic asthenospermia: study of 151 cases / Z.M. Sun, C.F. Ding, Z.Z. Yan, et al. // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* - 2007. - Vol. 87, No. 18. - P. 1263-1265.
299. Takahashi K. Clinical significance of direct immunobead test to detect anti-sperm antibody / K. Takahashi, K. Ogawa, H. Tobai, et al. // *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi.* - 1992. - Vol. 44, No. 7. - P. 779-786.
300. Tiepolo L. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent human Y chromosome long arm / L. Tiepolo, O. Zuffard // *Hum. Genet.* - 1976. - Vol. 34, No. 2. - P. 119- 124.

301. Trummer H. The impact of cigarette smoking on human semen parameters and hormones / H. Trummer, H. Habermann, K. Pummer // *Hum. Reprod.* - 2002. - Vol. 17, No. 6. - P. 1554-1559.

302. Trummer H. Thyroid hormones and thyroid antibodies in infertile males / H. Trummer, S. Ramschak-Schwarzer, J. Haas // *Fertil. Steril.* - 2001. - Vol. 76, No.2. - P.254-257.

303. Trummer H. Value of intensive thyroid assessment in male infertility / H. Trummer, S. Ramschak-Schwarzer, J. Haas, et al. // *Acta. Med. Austriaca.* - 2003. - Vol. 30, No. 4. - P. 103-104.

304. Valenta L.J. A syndrome of functional hypogonadotropic hypogonadism and sterility in a male with elevated serum estradiol / L.J. Valenta // *Fertil. Steril.* - 1977. - Vol. 28, No. 8. - P. 881-884.

305. Venkatesh S. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of mitochondrial DNA (mtDNA) mutations in male infertility // S. Venkatesh, M. Deecaraman, R. Kumar, et al. // *Indian J. Med. Res.* - 2009. - Vol. 129, No. 2. - P. 127-137.

306. Verajancova E. IL-10 is highly expressed in criptochid criptepididimal epithelium a probable mechanism preventing immune responses against autoantigenic spermatozoa in the epididimal tubule / E. Verajancova, P. Pollanen, A. Hanninen, et al. // *Inf. J. Androl.* - 2002. - Vol. 3. - P. 129-133.

307. Vergaund G. A deletion map of the human Y chromosome based on DNA Gibridization / G. Vergaund // *Androl.* - 1986. - Vol. 38. - P. 109-124.

308. Vilfan I.D. Formation of native-like mammalian sperm cell chromatin with folded bull protamine / I.D. Vilfan, C.C. Conwell, N.V. Hud // *J. Biol. Chem.* - 2004. - Vol. 2. - P. 288-295.

309. Vilorio T. Cigarette smoking affects specific sperm oxidative defenses but does not cause oxidative DNA damage in infertile men / T. Vilorio, M. Meseguer, J.A. Martínez-Conejero, et al. // *Fertil. Steril.* - 2010. - Vol. 94, No. 2. - P.631-617.

310. Vivas A. G. Immune-testicular regulation and cytokines / A.G. Vivas, H.J. Lozano, J. Velasco // *Invest Clin.* - 2007. - Vol. 48, No. 1. - P.107-121.

311. 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, No. 1. P. 60-67.

312. Walker W.H. Non-classical actions of testosterone and spermatogenesis / W.H. Walker // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Bio. Sci. - 2010. - Vol. 27, No. 365. - P. 1557-1569.

313. Wan C.C. Infection of *Chlamydia trachomatis* and apoptosis of spermatogenic cells / C.C. Wan, H. Wang B.J. Hao, et al. // Zhonghua Nan Ke Xue. - 2003. - Vol. 9, No. 5. - P. 350-351, 354.

314. Wang X. Alterations in mitochondria membrane potential and oxidative stress in infertile men: a prospective observational study / X. Wang, R.K. Sharma, A. Gupta, et al. // Fertil. Steril. - 2003. - Vol. 80, No. 2. - P. 844-850.

315. Wdowiak A. Levels of FSH, LH and testosterone, and sperm DNA fragmentation / A. Wdowiak, D. Raczkiwicz, M. Stasiak, et al. // Neuro Endocrinol Lett. - 2014. - Vol. 35, No. 1. - P. 73-79.

316. Weakley B.S. A beginner's handbook in biological transmission electron microscopy/ B.S. Weakley // Edinburg, Churchill Livingstone. - 1981. - 264 p.

317. Weinberg J.M. Lipotoxicity / J.M. Weinberg // Kidney Int. - 2006. - Vol. 70, No. 9. - P.1560-1566.

318. Weiss D.B. Follicle-stimulating hormone in azoospermia in prediction of spermatogenic patterns / D.B. Weiss, S. Gottschalk-Sabag, Z. Zukerman, et al // Harefuah. - 1998. - Vol. 135, No. 5-6. - P.169-175.

319. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen // WHO Press. - Fifth Edition. - 2010. - 271p.

320. Wiland E. Chromosomal anomalies as a predisposing factor for male Infertility / E. Wiland, M. Kurpisz // Folia Histochem. Cytobiol. - 1997. - Vol. 2. - P. 55-62.

321. Wolf D. Pregnancy after subzonal insemination with spermatozoa lacking dynein arms / D. Wolf, D. Feneux, D. Escalier, et al. // J. Reprod. Fertil. - 1993. - Vol. 97. - P. 487-492.

322. Wolfe J.P. High levels of sperm-associated antibodies impair human sperm oolemma interaction after subzonal insemination / J.P. Wolfe, M. De Almeida, B. Ducot // Fertil. Steril. - 1995. - Vol. 63, No. 3. - P. 584-590.

323. Wortsman J. Abnormal testicular function in men with primary hypothyroidism / J. Wortsman, W. Rosner, M.L. Dufau // Am. J. Med. - 1987. - Vol. 82, No. 2. - P. 207-212.

324. Yang M.G. Sexual hormone levels in semen and germ cell apoptosis / M.G. Yang, Y. Yang, P. Huang, et al. // *Zhonghua Nan Ke Xue.* - 2006. - Vol. 12, No. 5. - P. 432-434.

325. Yebra L. Detection of P2 Precursors in the Sperm Cells of Infertile Patients Who Have Reduced Protamine P2 Levels 5 / L. Yebra, J.L. Ballescá, J.A. Vanrell, et al. // *Fertil. Steril.* - 1998. - Vol. 4. - P. 755-759.

326. Zabul J. Usefulness of examining gonadotropin hormones and testosterone in men with abnormal semen / J. Zabul, W. Mierzejewski, A. Rogoza // *Ginekol. Pol.* - 1994. - Vol. 65, No. 2. - P.71-74.

327. Zalata A. Evaluation of beta-endorphin and interleukin-6 in seminal plasma of patients with certain andrological diseases / A. Zalata, T. Hafez, M.J. Van Hoecke, et al. // *Hum Reprod.* - 1995. - Vol. 10, No. 12. - P.3161-3165.

328. Zamboni L. The ultrastructural pathology of the spermatozoon as a cause of infertility: the role electron microscopy in the evaluation of semen quality / L. Zamboni // *Fertil. Steril.* - 1987. - Vol. 48. - P. 711-734.

329. Zhang J. Determination of IL-1beta, IL-4 and IL-10 contents in the seminal plasma of infertile patients and its clinical value / J. Zhang, J. Gao // *Zhonghua Nan Ke Xue.* - 2004. - Vol. 10, No. 11. - P. 851-854.

330. Zhang Q. Assessment of Seminal Estradiol and Testosterone Levels as Predictors of Human Spermatogenesis / Q. Zhang, Q. Bai, Y. Yuan, et al. // *J. Andrology.* - 2010. - Vol. 31, No. 2. - P. 215-220.

331. Zhang S. Sperm head vacuoles--light microscopic and ultrastructural observations: a case report / S. Zhang, N. Wang, B. He, et al. // *Ultrastruct Pathol.* - 2012. - Vol. 36, No. 3. - P. 185-188.

332. Zhou H. Genetic defect in Chinese azoospermic patients and their relationship with reproductive hormones / H. Zhou, J.W. Zhu, H.G. Li, et al. // *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* - 2009. - Vol. 26, No. 4. - P. 427-430.

333. Zini A. Alcohol intake and cigarette smoking: Impact of two major lifestyle factors on male fertility / A. Zini, S. Phillips, A. Courchesne, et al. // *Pathology and Microbiology.* - 2010. - Vol. 53. - P. 35-40.

**ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ**

- АСАТ – антиспермальные антитела  
АСБ – андроген-связывающий белок  
ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения  
ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии  
ГБОУ ВПО – государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования  
ГБУЗ СО ОДКБ – государственное бюджетное учреждение здравоохранения Свердловской области областная детская клиническая больница  
ГнРНГ – гонадотропин релизинг гормон  
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  
ТРГ – тиротропин релизинг гормон  
ТТГ – тиреотропный гормон  
УГТ – урогенитальный тракт  
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон  
ЦНС – центральная нервная система  
ЭМИС – электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов  
Ig – иммуноглобулины  
IL – интерлейкины