

Фенотип сперматозоидов при варикоцеле

О. Б. Жуков^{1,2}, Е. Е. Брагина^{3,4}, А. В. Левина⁵

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;

²Ассоциация сосудистых урологов и репродуктологов; Россия, 105187 Москва, ул. Мироновская, 18;

³Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского ФГБОУ «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова»; Россия, 115522 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40;

⁴ФГБУН «Медико-генетический научный центр им. Н. П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1;

⁵ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»;

Россия, 192019 Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1

Контакты: Олег Борисович Жуков ob.zhukov@yandex.ru

Цель исследования — оценить морфологию сперматозоидов у пациентов с варикоцеле после его хирургического лечения и после терапии «Простатиленом® АЦ» по данным микроскопического исследования.

Материалы и методы. В основную группу были включены 20 мужчин в возрасте 26–45 лет (средний возраст $31,6 \pm 6,1$ года) с различными стадиями варикоцеле и нарушением фертильности; из них 10 больных с субклинической формой варикоцеле проходили консервативное лечение «Простатиленом® АЦ» (1-я группа) и были обследованы до и после него, 10 мужчин с бесплодием, обусловленным в том числе варикозным расширением вен семенного канатика, обследованы в сроки от 6 мес до 3 лет после хирургического лечения (2-я группа). Проведены стандартные клинико-лабораторные тесты, спермиологическое исследование, электронное микроскопическое исследование эякулята. В контрольную группу вошли 65 фертильных мужчин, образцы спермы которых были получены из банка репродуктивных клеток и тканей и использованы при сравнении результатов микроскопического исследования.

Результаты. У пациентов, прошедших консервативную терапию, содержание сперматозоидов с незрелым хроматином было меньше, чем у мужчин контрольной группы ($p = 0,045$). Различались значения этого показателя и у пациентов 1-й и 2-й групп (после консервативной терапии и после варикоцелэктомии) ($p = 0,037$). По сравнению с контролем было выше содержание сперматозоидов с избыточной остаточной цитоплазмой на головке и на шейке у пациентов, перенесших варикоцелэктомию ($p = 0,011$). После консервативной терапии содержание сперматозоидов с избыточной остаточной цитоплазмой было практически равным таковому в контроле и было меньше, чем у пациентов после варикоцелэктомии ($p = 0,028$).

Заключение. У пациентов с субклинической формой варикоцеле после консервативной терапии «Простатиленом® АЦ» происходит статистически значимое улучшение ультраструктуры сперматозоидов по сравнению с таковой у пациентов, оперированных по поводу данной патологии.

Ключевые слова: варикоцеле, ультраструктура сперматозоидов, микроскопическое исследование, варикоцелэктомия, «Простатилен АЦ»

Для цитирования: Жуков О. Б., Брагина Е. Е., Левина А. В. Фенотип сперматозоидов при варикоцеле. Андрология и генитальная хирургия 2019;20(4):00–00.

DOI: 10.17650/2070-9781-2019-20-4-00-00

Sperm phenotypes in varicocele

O. B. Zhukov^{1,2}, E. E. Bragina^{3,4}, A. V. Levina⁵

¹RUDN University; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia;

²Association of Vascular Urologists and Reproductologists; 18 Mironovskaya St., Moscow 105187, Russia;

³A. N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University; Bld. 40, 1 Leninskie Gory, Moscow 119992, Russia;

⁴N. P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorechye St., Moscow 115522, Russia;

⁵Institute of Toxicology, Federal Medical and Biological Agency of Russia; 1 Bekhtereva St., Saint Petersburg 192019, Russia

The study objective is to microscopically evaluate the morphology of sperm in patients with varicocele after surgical treatment and therapy with Prostatilen® AC.

Materials and methods. The treatment group included 20 males between 26 and 45 years of age (mean age 31.6 ± 6.1 years) with various stages of varicocele and fertility problems; among them, 10 patients with subclinical stages of varicocele received conservative treatment with Prostatilen® AC (group 1) and were examined before and after the treatment; 10 males with infertility caused in part by varicocele of the spermatic cord veins were examined 6 months to 3 years after surgical treatment (group 2). Standard clinical and lab tests, sperm analysis,

electron microscopy of the ejaculate were performed. The control group included 65 fertile males whose sperm samples were obtained from a bank of reproductive cells and tissues and used for comparison in microscopic examination.

Results. In patients who received conservative treatment the number of sperm with immature chromatin decreased ($p = 0.045$) compared to the control group. This characteristic differed in patients after varicocelectomy and patients after conservative treatment ($p = 0.037$). Compared to control, the number of sperm with excess residual cytoplasm in the head and neck was higher in patients after varicocelectomy ($p = 0.011$). After conservative treatment, the number of sperm with excess residual cytoplasm was close to the control number and lower than in patients after varicocelectomy ($p = 0.028$).

Conclusion. In patients with subclinical varicocele, conservative treatment with Prostatilen® AC leads to significant improvement in sperm ultrastructure compared to patients who underwent surgery to treat this pathology.

Key words: varicocele, sperm ultrastructure, microscopic examination, varicocelectomy, Prostatilen® AC

For citation: Zhukov O. B., Bragina E. E., Levina A. V. Sperm phenotypes in varicocele. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2019;20(4):00–00. (In Russ.).

Введение

Лекарственному лечению больных с варикоцеле в пред- и послеоперационном периоде посвящено множество дискуссионных статей [1–6]. Основным патофизиологическим фактором, нарушающим фертильность сперматозоидов у этих больных, считается гипертермия; возможно, влияние оказывают также венозная ишемия и оксидативный стресс, запускающие каскад компенсаторно-приспособительных реакций на клеточном и органно-системном уровне в некоторых случаях [7–9]. Возникающая венозная гиперволемиа или ишемия при варикоцеле активирует продукцию интерлейкинов 1 и 6 и лептина [10, 11]. Эти вещества, в свою очередь, способствуют образованию активных форм кислорода, которые вызывают изменение морфологии сперматозоидов и нарушение их структурно-функциональных параметров. Разорвать связь этих взаимоотношающихся факторов возможно не только хирургическим путем, устраняя рефлюкс, органную гипертермию, улучшая микроциркуляцию, но и путем комплексного воздействия на оксидативный стресс, останавливая каскад патофизиологических реакций при варикоцеле.

Известно, что варикоцеле диагностируется у каждого 6-го мужчины в общей популяции. Варикозное расширение вен семенного канатика в 35 % случаев приводит к первичному бесплодию, а причиной вторичного бесплодия может стать у 80 % больных [12].

Лабораторная диагностика мужского бесплодия у пациентов с варикоцеле основана на стандартном исследовании спермы (с определением концентрации сперматозоидов, их подвижности, жизнеспособности и морфологии) в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения [13]. Ухудшение параметров спермограммы при варикоцеле, в том числе связанное с изменением морфологии сперматозоидов, продемонстрировано в целом ряде работ [14–16]. При оценке функциональных свойств сперматозоидов при варикоцеле определяют количество активных форм кислорода, уровень антиоксидантной активности се-

менной жидкости [14], а также количество сперматозоидов с фрагментацией ДНК (с помощью методов TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling), SCSA (sperm chromatin structure assay), comet assay (single cell gel electrophoresis)) [16, 17] и анализируют структуру хроматина сперматозоидов [17]. Проводятся исследования молекулярных изменений эякулята на субклеточном уровне, связанных с плохой оплодотворяющей способностью сперматозоидов [18].

Отрицательное воздействие варикоцеле на морфологию сперматозоидов отмечено во многих работах [4, 15–17], однако они касались в основном содержания морфологически нормальных сперматозоидов и не продемонстрировали какого-то специфического для варикоцеле нарушения морфологии половых клеток. Только в единичных исследованиях авторы выявили изменения морфологии сперматозоидов. А. Zini и соавт. считают характерной особенностью морфологии сперматозоидов при варикоцеле повышенное содержание клеток с избыточной остаточной цитоплазмой (по старой терминологии – цитоплазматических капель) на головке и шейке [19, 20]. Однако морфологическое строение сперматозоидов по данным ультраструктурного исследования до и после оперативного лечения или на фоне антиоксидантной терапии до сих пор не изучено.

Следует понимать, что, хотя варикоцеле чаще встречается у мужчин с отклонениями в спермограмме, прямая связь между снижением мужской фертильности и наличием варикоцеле не доказана. Мужчинам с бесплодием и нормальными показателями эякулята или мужчинам с субклинической формой варикоцеле лечение по поводу варикоцеле не показано. Клинически значимым является пальпируемое варикозное расширение вен лозовидного сплетения, т. е. варикоцеле I–III стадии. Субклинической формой варикоцеле, по рекомендациям Европейской ассоциации урологов (European Association of Urology) 2018 г., следует считать отсутствие видимых и пальпаторных изменений вен семенного канатика в покое и при пробе Вальсальвы,

если при ультразвуковой доплерографии выявлен обратный кровоток по этим венам. Оперативное лечение по поводу клинически значимого варикоцеле может привести к улучшению показателей эякулята [19] и снизить степень повреждения ДНК сперматозоидов [21, 22], а также улучшить результаты лечения бесплодия с применением вспомогательных репродуктивных технологий. В то же время варикоцелэктомия при субклиническом варикоцеле не приводит к улучшению параметров эякулята [23].

Метод количественного электронно-микроскопического исследования сперматозоидов (ЭМИС) позволяет исследовать морфологические субстраты, определяющие подвижность сперматозоидов, их пенетрационную способность, компетентность в раннем эмбриогенезе, а также клеточную основу функциональной некомпетентности сперматозоидов [24–29].

В частности, эти исследования дают представление о том, что морфология сперматозоидов – показатель их компетентности как собственно в процессе оплодотворения (проникновения сперматозоида в яйцеклетку), так и в процессе эмбриогенеза.

Цель исследования – оценить морфологию сперматозоидов у пациентов с варикоцеле после его хирургического лечения и после терапии «Простатиленом® АЦ» по данным микроскопического исследования.

Материалы и методы

В основную группу были включены 20 мужчин в возрасте 26–45 лет (средний возраст $31,6 \pm 6,1$ года) с различными стадиями варикоцеле и нарушением фертильности; из них 10 больных с субклинической формой варикоцеле (средний возраст $29,2 \pm 5,3$ года) проходили консервативное лечение «Простатиленом® АЦ» (1-я группа) и были обследованы до и после него; 10 мужчин с сохраняющимся бесплодием, обусловленным в том числе варикозным расширением вен семенного канатика (средний возраст $32,6 \pm 3,3$ года), обследованы в сроки от 6 мес до 3 лет после хирургического лечения (2-я группа) (табл. 1). Длительность бесплодия колебалась от 1,0 до 5,5 года и в среднем достигала $1,6 \pm 0,6$ года. Пациентов с концентрацией сперматозоидов <5 млн/мл не включали в исследование. Проведены стандартные клинико-лабораторные тесты, спермиологическое исследование в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения [13], ЭМИС.

В контрольную группу вошли 65 фертильных мужчин, образцы спермы которых были получены из банка репродуктивных клеток и тканей «Репробанк», удовлетворяли требования к донорской сперме и были использованы при сравнении результатов ЭМИС.

Пациенты 1-й группы получали «Простатилен® АЦ» (АО «МБНПК «Цитомед», Россия) в течение 20 дней. Данные ректальные суппозитории разработаны на ос-

нове ранее зарегистрированного препарата «Простатилен» (суппозитории ректальные, 30 мг) путем добавления в композицию L-аргинина (100 мг) и цинка (23 мг). Обследование проводили дважды: до и на 5–6-е сутки после лечения.

Таблица 1. Распределение пациентов с варикоцеле по возрастным группам, абс.

Table 1. Age distribution of patients with varicocele, abs.

Группа Group	26–35 лет 26–35 years	35–40 лет 35–40 years	40–45 лет 40–45 years
1-я группа Group 1	5	3	3
2-я группа Group 2	4	3	3

Пациенты 2-й группы обследованы однократно в ходе выяснения причин сохраняющегося в послеоперационном периоде бесплодия.

Для проведения ЭМИС образцы эякулята после разжижения фиксировали 2,5 % раствором глутарового альдегида на 0,1 М какодилатном буфере (pH 7,2), постфиксировали 1 % осмиевой кислотой и заливали в эпон. Ультратонкие срезы готовили на ультратонкотоме UltraCut III (Reichert, Германия) алмазным ножом (Diatome, Швейцария) и изучали с помощью электронного микроскопа JEM 1400 (JEOL, Япония).

Статистический анализ проводили с применением U-критерия Манна–Уитни.

Результаты

Строение головок сперматозоидов оценивали после просмотра не менее 100 клеток (рис. 1). При просмотре и подсчете сперматозоидов предпочтение отдавали продольным срезам, в которые попадали средняя часть

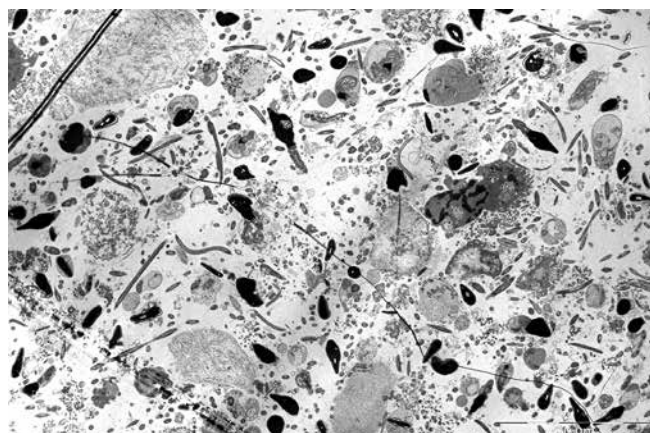


Рис. 1. Ультратонкий срез взвеси сперматозоидов, используемый для подсчета при электронно-микроскопическом исследовании

Fig. 1. Ultrathin section of sperm suspension used for counting in electron microscopy

головки с базальной частью и структурами шейки. Конденсированный хроматин типичных сперматозоидов выглядел как гомогенная структура средней электронной плотности (рис. 2). При нарушениях конденсации хроматина в ядрах был виден гранулярный, так называемый незрелый хроматин, в котором просматривалась хромонемная структура – фибриллы толщиной 40 нм (рис. 3). За нормативный показатель содержания сперматозоидов с незрелым хроматином мы принимали 30 % [28, 30]. Мы также определяли наличие цитоплазматических капель на головке и на шейке. У нормальных сперматозоидов присутствует небольшой

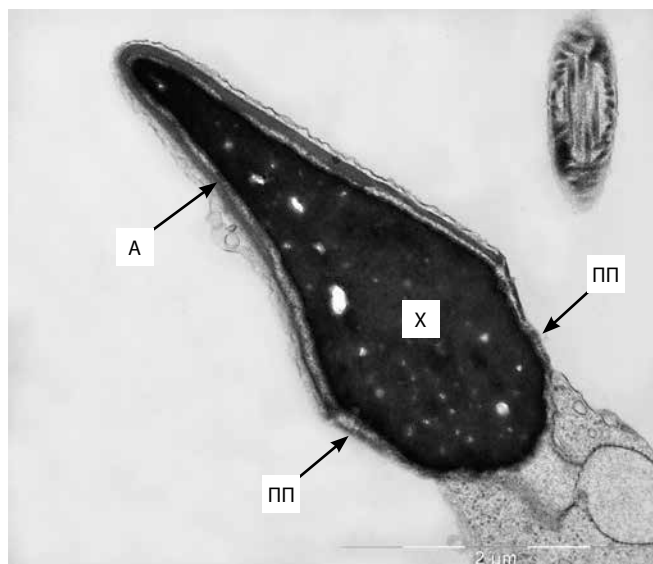


Рис. 2. Нормальный сперматозоид с конденсированным хроматином (X). А – акросома; ПП – постакросомная пластина

Fig. 2. Normal spermatozoon with condensed chromatin (X). A – acrosome; ПП – post-acrosomal sheath

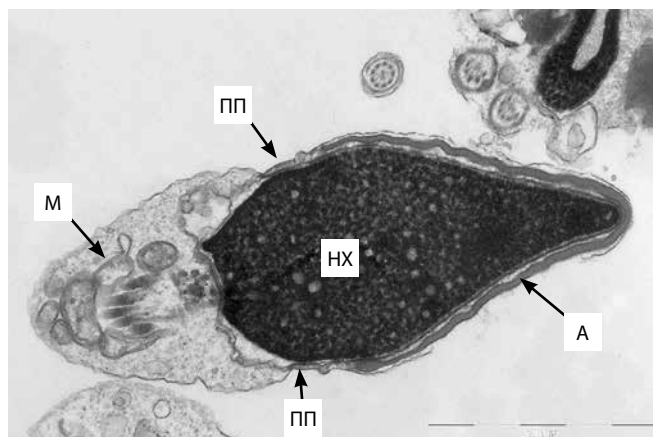


Рис. 3. Сперматозоид с головкой нормальной формы и незрелым (недостаточно конденсированным) хроматином (HX). А – акросома; ПП – постакросомная пластина; Б – базальная пластина; М – митохондрии

Fig. 3. Spermatozoon with a normal head and immature (insufficiently condensed) chromatin (HX). A – acrosome; ПП – post-acrosomal sheath; Б – basal plate; М – mitochondria

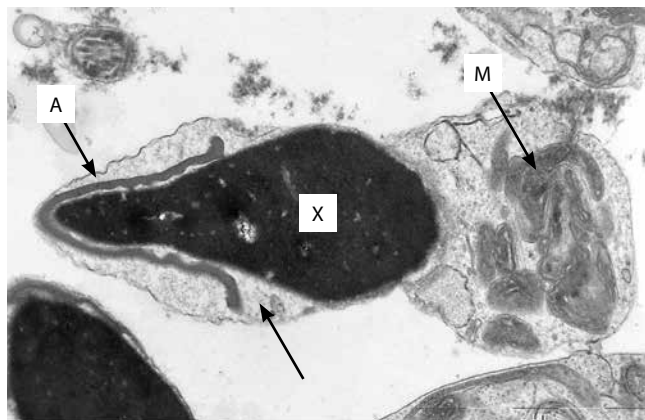


Рис. 4. Сперматозоид с цитоплазматической каплей (ЦК) на головке. X – хроматин; А – акросома. Стрелки указывают на отсутствие постакросомной пластины

Fig. 4. Spermatozoon with cytoplasmic drop (ЦК) in the head. X – chromatin; A – acrosome. Arrows show the absence of the post-acrosomal sheath

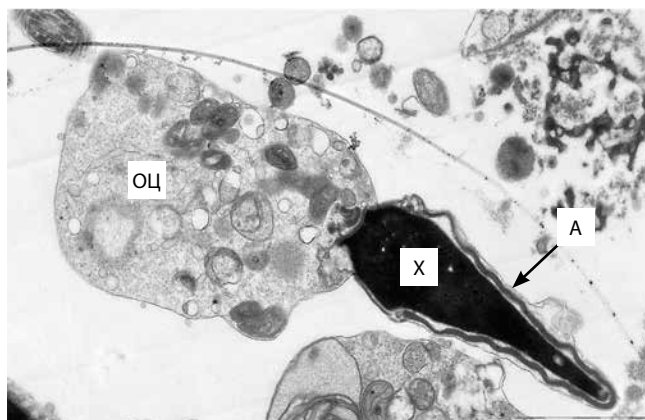


Рис. 5. Сперматозоид с избыточной остаточной цитоплазмой (ОЦ) на шейке. А – акросома; X – хроматин

Fig. 5. Spermatozoon with excess residual cytoplasm (ОЦ) in the neck. A – acrosome; X – chromatin

цитоплазматический остаток на шейке и в среднем отделе жгутика; аномалией считается увеличенная цитоплазматическая капля, площадь которой превышает 1/3 площади ядра [13].

Наличие цитоплазматической капли на головке является атипией, часто сочетающейся с отсутствием перинуклеарной теки, в норме расположенной между ядром и акросомой сперматозоидов. У таких сперматозоидов (рис. 4) отсутствует постакросомный сегмент перинуклеарной теки, присутствующий в нормальных сперматозоидах (см. рис. 2, 3). Нормативное содержание сперматозоидов с гипоплазией акросомы, определенное у фертильных мужчин, составляет 60 %, сперматозоидов с деградацией акросомы – 20 %, аномалией митохондрий – 10 %, атипией аксонемы жгутика – 30 % [28, 30].

В 1-й группе до лечения повышенное (>15 %) содержание избыточной остаточной цитоплазмы выявлено у 5 (50 %) из 10 пациентов, незрелого хроматина – у 3

Таблица 2. Результаты обследования пациентов с субклиническим варикоцеле до лечения «Простапиленом® АЦ»

Table 2. Results of examination of patients with subclinical varicocele before treatment with Prostatilen® AC

Пациент (№) Patient (No.)	Показатели спермограммы Sperm analysis		Доля сперматозоидов с нарушениями морфологии по данным электронно-микроскопического исследования, % Fraction of sperm with abnormal morphology per electron microscopy, %					
	Количество сперматозоидов, млн Sperm count, millions	Доля прогрессивно- подвижных форм (категорий А и В), % Fraction of progressive motile sperm (grades A and B), %	с незрелым хроматином with immature chromatin	с избыточной цитоплазмой на головке или шейке with excess cytoplasm in the head	с гипоплазией акросомы with acrosome hypoplasia	с деградацией акросомы with acrosome degradation	с аномалией митохондрий with mito- chondrial abnormalities	с аномалией жгутика with tail abnormalities
1	264	44	5	5	42	7	6	8
2	72	30	47	62	73	7	20	19
3	78	40	4	13	62	10	30	7
4	108	65	29	21	43	13	38	13
5	15	40	5	13	42	8	24	5
6	73	38	20	20	55	11	21	8
7	0,6	0	33	42	51	22	17	37
8	262	18	15	17	53	22	6	8
9	370	24	49	12	36	35	20	9
10	92	40	8	9	56	20	9	17

(30 %), гипоплазии акросомы – у 2 (20 %), аномалий митохондрий – у 7 (70 %), атипии аксонемы жгутика – у 1 (10 %) (табл. 2).

В контрольной группе аномальное содержание сперматозоидов с избыточной остаточной цитоплазмой на шейке и головке (>15 %) выявлено в 15 (23 %) из 65 образцов, повышенное содержание сперматозоидов с незрелым хроматином – в 16 (25 %) из 65.

Во 2-й группе повышенное содержание сперматозоидов с незрелым хроматином выявлено после оперативного лечения в эякуляте 6 (60 %) из 10 пациентов, сперматозоидов с избыточной остаточной цитоплазмой на головке и на шейке – в 7 (70 %) случаях, аномалий митохондрий – в 6 (60 %), атипии аксонемы жгутика – в 1 (табл. 3).

В 1-й группе пациентов после консервативной терапии повышенное содержание сперматозоидов с незрелым хроматином выявлено в эякуляте 3 (30 %) из 10 пациентов, сперматозоидов с избыточной остаточной цитоплазмой на головке и на шейке – в 4 (40 %) случаях, аномалий митохондрий – в 6 (60 %), атипии аксонемы жгутика – в 1 (табл. 4).

Содержание сперматозоидов с незрелым хроматином статистически значимо уменьшено после консервативной терапии по сравнению с таковым в контрольной группе ($p = 0,045$) (табл. 5). Статистически значимое различие в содержании сперматозоидов с на-

рушенной конденсацией хроматина наблюдается также между группой пациентов, перенесших варикоцелэктомия, и группой пациентов, прошедших консервативную терапию ($p = 0,037$).

Статистически значимое по сравнению с контролем повышение содержания сперматозоидов с избыточной остаточной цитоплазмой на головке и на шейке было выявлено у пациентов 2-й группы ($p = 0,011$). Среднее содержание таких сперматозоидов у пациентов 1-й группы до лечения также было повышено по сравнению с контролем, однако различие не было статистически значимым ($p = 0,282$). После консервативной терапии содержание сперматозоидов с избыточной остаточной цитоплазмой было практически равно таковому в контроле и статистически значимо меньше, чем во 2-й группе ($p = 0,028$) (см. табл. 5).

По остальным параметрам структуры акросомы и жгутика сперматозоидов статистически значимых различий не обнаружено.

Обсуждение

В настоящей работе мы показали, что у пациентов с субклинической формой варикоцеле после консервативной терапии происходит статистически значимое уменьшение содержания сперматозоидов с неконденсированным (незрелым) хроматином по сравнению с пациентами, оперированными по поводу данной

Таблица 3. Результаты обследования пациентов с варикоцеле после хирургического лечения

Table 3. Results of examination of patients with varicocele after surgical treatment

Пациент (№) Patient (No.)	Показатели спермограммы Sperm analysis		Доля сперматозоидов с нарушениями морфологии по данным электронно-микроскопического исследования, % Fraction of sperm with abnormal morphology per electron microscopy, %					
	Количество сперматозои- дов, млн Sperm count, millions	Доля прогрессивно- подвижных форм (категорий А и В), % Fraction of progressive motile sperm (grades A and B), %	с незрелым хроматином with immature chromatin	с избыточной цитоплазмой на головке или шейке with excess cytoplasm in the head	с гипопла- зией акросомы with acrosome hypoplasia	с дегра- дацией акросомы with acrosome degradation	с аномалией митохондрий with mitochondrial abnormalities	с ано- малией жгутика with tail abnorma- lities
1	103	45	52	33	49	13	15	19
2	124	58	43	19	43	4	0	14
3	168	43	24	24	70	10	13	11
4	16	18	15	15	47	37	12	36
5	127	66	16	16	41	22	16	20
6	93	20	15	15	70	20	10	9
7	50	48	40	40	47	11	43	13
8	41	37	18	18	30	22	17	8
9	210	23	11	11	51	17	3	11
10	360	26	35	35	47	11	3	8

Таблица 4. Результаты обследования пациентов с субклиническим варикоцеле после лечения «Простапиленом® АЦ»

Table 4. Results of examination of patients with subclinical varicocele after treatment with Prostatilen® AC

Пациент (№) Patient (No.)	Показатели спермограммы Sperm analysis		Доля сперматозоидов с нарушениями морфологии по данным электронно-микроскопического исследования, % Fraction of sperm with abnormal morphology per electron microscopy, %					
	Количество сперматозои- дов, млн Sperm count, millions	Доля прогрессив- но-подвижных форм (категорий А и В), % Fraction of progressive motile sperm (grades A and B), %	с незрелым хроматином with immature chromatin	с избыточной цитоплазмой на головке или шейке with excess cytoplasm in the head	с гипоплази- ей акросомы with acrosome hypoplasia	с дегра- дацией акросомы with acrosome degradation	с аномалией митохондрий with mitochondrial abnormalities	с аномалией жгутика with tail abnormalities
1	605	58	5	5	42	7	6	8
2	93	19	47	62	73	7	20	19
3	162	41	4	13	62	10	30	7
4	255	61	29	21	43	13	38	13
5	48	46	5	13	42	8	24	5
6	71	39	20	20	55	11	21	8
7	3	3	33	42	51	22	17	37
8	312	18	15	17	53	22	6	8
9	573	29	49	12	36	35	20	9
10	132	44	8	9	56	20	9	17

Таблица 5. Сравнение результатов электронно-микроскопического исследования сперматозоидов у пациентов с варикоцеле после консервативного и хирургического лечения и фертильных мужчин

Table 5. Comparison of the results of electron microscopy of sperm in patients with varicocele after conservative and surgical treatment and fertile males

Группа Group	Доля сперматозоидов с нарушениями морфологии по данным электронно-микроскопического исследования, % Fraction of sperm with abnormal morphology per electron microscopy, %					
	с незрелым хроматином with immature chromatin	с избыточной цитоплазмой на головке или шейке with excess cytoplasm in the head	с гипоплазией акросомы with acrosome hypoplasia	с деградацией акросомы with acrosome degradation	с аномалией митохондрий with mitochondrial abnormalities	с аномалией жгутика with tail abnormalities
1-я группа до лечения Group 1 before treatment	21,5 ± 12,0	21,2 ± 12,0	47,5 ± 7,0	16,5 ± 6,0	19,1 ± 7,0	19,0 ± 7,0
1-я группа после лечения Group 1 after treatment	16,9 ± 14,0*	14,9 ± 8,0*	48,1 ± 9,0	14,2 ± 6,0	16,6 ± 6,0	12,0 ± 6,0
2-я группа Group 2	31,5 ± 11,0*	22,6 ± 7,0*	49,5 ± 8,0	16,7 ± 6,0	13,2 ± 8,0	15,0 ± 6,0
Контрольная группа Control group	25,5 ± 11,0	14,4 ± 7,0	49,4 ± 9,0	20,8 ± 6,0	16,5 ± 6,0	12,1 ± 5,0

*Различия с показателями контрольной группы статистически значимы ($p < 0,05$).

*Significant differences compared to the control group ($p < 0.05$).

нозологии (см. табл. 5). Тенденция к повышению содержания сперматозоидов с незрелым хроматином выявлена у пациентов до лечения.

Наши данные согласуются с данными, полученными при исследовании сперматозоидов пациентов с клинической формой варикоцеле. Повышенное содержание сперматозоидов с нарушенной конденсацией хроматина при клинической форме варикоцеле выявлено с использованием различных методов, в том числе трансмиссионной электронной микроскопии (которая является прямым методом определения конденсации хроматина) [31], окраски анилиновым синим [32, 33] и хромомицином АЗ [17]. Продемонстрировано, что у больных с клинической формой варикоцеле повышено содержание сперматозоидов с нарушением статуса протаминизации. Окраска анилиновым синим и хромомицином АЗ — метод косвенной оценки, позволяющий выявлять недостаточную протаминизацию и, следовательно, недостаточную конденсацию хроматина сперматозоидов.

Другим параметром неполной дифференцировки сперматозоидов считается наличие цитоплазматических капель на головке и на шейке, или, по новой терминологии, избыточной остаточной цитоплазмы [34]. Повышенное содержание сперматозоидов с избыточной остаточной цитоплазмой может служить показателем того, что эти сперматозоиды являются мишенями оксидативного стресса [35]. Важно и отсутствие постацросомного сегмента перинуклеарной теки у сперматозоидов с цитоплазматической каплей на головке. Именно эта структура — зона локализации фосфолипазы С ζ , которая идентифицирована как фактор акти-

вации ооцитов после оплодотворения [36]. E. Janghoban-Laricheh и соавт. установили, что при варикоцеле снижена продукция фосфолипазы С ζ [37]. Недавние исследования показали, что фактор активации ооцитов чувствителен к тепловой обработке или холодному шоку во время оттаивания [38]. Учитывая, что при варикоцеле наблюдается хронический тепловой стресс гениталий и что данное состояние связано с низким качеством спермы, можно предположить, что изменения морфологии сперматозоидов, приводящие к отсутствию постацросомного сегмента и фактора активации ооцитов, могут быть одним из механизмов нарушения репродуктивной функции сперматозоидов.

Патофизиологический механизм влияния варикоцеле на сперматогенез до конца не изучен. Многие авторы указывают в качестве причин увеличение скротальной температуры, гиперволемию в семенной вене и нарушения микроциркуляции. Опубликованы работы, демонстрирующие повышение уровня активных форм кислорода и маркеров апоптоза в сперме бесплодных мужчин с варикоцеле, но точные сроки восстановления (нормализации) сперматогенеза являются актуальным предметом изучения в настоящий момент. Это причина проведения «агрессивной» антиоксидантной терапии у больных, перенесших варикоцелэктомия и/или не решившихся на операцию по поводу этого заболевания.

Мы показали, что лечение препаратом «Простатилен® АЦ» способствует нормализации показателей ультраструктуры сперматозоидов. Эти данные подтверждают наше предположение о системном влиянии «Простатилена® АЦ» на сперматогенез больных с варикоцеле. Препарат нивелирует действие простатического

фактора у больных с возможной гемодинамической связью варикозного расширения вен семенного канала и простаты при частичной окклюзии магистральных вен таза. По данным клинических исследований, «Простатилен® АЦ» также способствует нормализации уровня фрагментации ДНК сперматозоидов и обладает способностью снижать уровень антиспермальных антител в эякуляте пациентов с хроническим абактериальным простатитом и сопутствующими нарушениями репродуктивной функции [39–42]. «Простатилен® АЦ» обладает антиагрегантной активностью, препятствует развитию тромбоза венул в репродуктивных органах, оказывает антиоксидантное действие, что подтверждается улучшением фенотипа сперматозоидов на фоне лечения в течение 20 дней. Изменения фенотипа сперматозоидов при субклиническом варикоцеле взаимосвязаны с увеличением числа прогрессивно-подвижных форм и улучшением их морфологии, что уже не раз подтверждалось [43].

Заключение

Варикоцеле является заболеванием, которое после ликвидации патологического рефлюкса, как и других

этиотропных факторов, включая повреждающее действие оксидативного стресса, не может завершиться полным выздоровлением больного.

Общие патоморфологические особенности сперматозоидов больных с варикоцеле вне зависимости от стадии заболевания — повышенное содержание незрелого хроматина, избыточная остаточная цитоплазма на головке и шейке сперматозоидов, аномалия митохондрий.

Индукция фенотипа сперматозоидов должна подчиняться законам фармакологического сопровождения этих пациентов до реализации их репродуктивной функции. Необходимо углубленное изучение параметров репродуктивной компетенции структурных компонентов эякулята.

Один из возможных вариантов ведения больных с субклиническим варикоцеле — использование ректальных суппозиторий «Простатилен® АЦ».

Следует и далее разрабатывать стратегию медицинского и фармакологического сопровождения больных с варикоцеле для выявления всех возможностей индукции фенотипа сперматозоидов и повышения их репродуктивного потенциала.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

1. Жуков О.Б., Уколов В.А., Жуков А.А. Комплексная терапия патоспермии у больных после рентгеноэндоваскулярной склеротерапии тестикулярных вен. Андрология и генитальная хирургия 2012;13(4):70–7. [Zhukov O.B., Ukolov V.A., Zhukov A.A. Combined therapy pathospermia patients after endovascular sclerotherapy of testicular veins. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2012;13(4):70–7. (In Russ.)].
2. Гамидов С.И., Попков В.М., Шатылко Т.В. и др. Место медикаментозной терапии в лечении мужчин с варикоцеле. Урология 2018;(5):114–21. [Gamidov S.I., Popkov V.M., Shatylo T.V. et al. The role of drug therapy in the management of varicocele. *Urologiya = Urology* 2018;(5):114–21. (In Russ.)].
3. Гамидов С.И., Овчинников Р.И., Попова А.Ю., и соавт. Современный подход к терапии мужского бесплодия у больных с варикоцеле. Терапевтический архив 2012;84(10):56–61. [Gamidov S.I., Ovchinnikov R.I., Popova A.Yu. et al. Current approach to therapy for male infertility in patients with varicocele. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive* 2012;84(10):56–61. (In Russ.)].
4. Евдокимов В.В., Селиванов Т.О. Нарушение сперматогенеза при варикоцеле. Патогенез и прогноз лечения. Андрология и генитальная хирургия 2006;7(3):12–8. [Evdokimov V.V., Selivanov T.O. Spermatogenesis disorders in patients with varicocele. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2006;7(3):12–8. (In Russ.)].
5. Zavattaro M., Ceruti C., Motta G. et al. Treating varicocele in 2018: current knowledge and treatment options. *J Endocrinol Invest* 2018;41(12):1365–75. DOI: 10.1007/s40618-018-0952-7.
6. Johnson D., Sandlow J. Treatment of varicoceles: techniques and outcomes. *Fertil Steril* 2017;108(3):378–84. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.07.020.
7. Аляев Ю.Г., Глыбочко П.В., Пушкарь Д.Ю. Урология. Российские клинические рекомендации. М.: Гэотар-Медиа, 2015. 480 с. [Alyayev Yu.G., Glybochko P.V., Pushkar D.Yu. *Urology. Russian clinical recommendations*. Moscow: Geotar-Media, 2015. 480 p. (In Russ.)].
8. Cho C.L., Esteves S.C., Agarwal A. Indications and outcomes of varicocele repair. *Panminerva Med* 2019;61(2):152–63. DOI: 10.23736/S0031-0808.18.03528-0.
9. Agarwal A., Rana M., Qiu E. et al. Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertility. *Andrologia* 2018;50(11):e13126. DOI: 10.1111/and.13126.
10. Shiraishi K., Matsuyama H., Takihara H. Pathophysiology of varicocele in male infertility in the era of assisted reproductive technology. *Int J Urol* 2012;19(6):538–50. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2012.02982.x.
11. Гамидов С.И., Авакян А.Ю. Роль субклинического варикоцеле в патогенезе идиопатической варикоэспермии. Медицинский вестник Башкортостана 2017;12(3):13–7. [Gamidov S.I., Avakyan A.Yu. The role of subclinical varicocele in pathogenesis of idiopathic pathospermia. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Bashkortostan Medical Journal* 2017;12(3):13–7. (In Russ.)].
12. Бердников М.А., Антипов Н.В. Варикоцеле: современная проблема. Журнал фундаментальной медицины и биологии 2016;(3):42–51. [Berdnikov M.A., Antipov N.V. Varicocele: the modern problem. *Zhurnal fundamentalnoy meditsiny i biologii = Journal of Fundamental Medicine and Biology* 2016;(3):42–50. (In Russ.)].
13. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edn. Geneva: WHO Press, 2010. 394 p.
14. Alkan İ., Yüksel M., Canat H.L. et al. Superoxide anion production by the spermatozoa of men with varicocele: relationship with varicocele grade and semen parameters. *World J Mens*

- Health 2018;36(3):255–62.
DOI: 10.5534/wjmh.180028.
15. Alsaikhan B., Alrabeeh K., Delouy G., Zini A. Epidemiology of varicocele. *Asian J Androl* 2016;18(2):179–81.
DOI: 10.4103/1008-682X.172640.
16. Nork J.J., Berger J.H., Crain D.S., Christman M.S. Youth varicocele and varicocele treatment: a meta-analysis of semen outcomes. *Fertil Steril* 2014;102(2):381–7.e6.
DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.04.049.
17. Dieamant F., Petersen C.G., Mauri A.L. et al. Semen parameters in men with varicocele: DNA fragmentation, chromatin packaging, mitochondrial membrane potential, and apoptosis. *JBRA Assist Reprod* 2017;21(4):295–301.
DOI: 10.5935/1518-0557.20170053.
18. Panner Selvam M.K., Agarwal A. Sperm molecular changes associated with varicocele-mediated male infertility. *World J Mens Health* 2019 Jul 26.
DOI: 10.5534/wjmh.190018.
19. Zini A., Buckspan M., Jamal M., Jarvi K. Effect of varicocelectomy on the abnormal retention of residual cytoplasm by human spermatozoa. *Hum Reprod* 1999;14(7):1791–3.
DOI: 10.1093/humrep/14.7.1791.
20. Zini A., Defreitas G., Freeman M. et al. Varicocele is associated with abnormal retention of cytoplasmic droplets by human spermatozoa. *Fertil Steril* 2000;74(3):461–4.
DOI: 10.1016/s0015-0282(00)00703-2.
21. Roque M., Esteves S.C. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review. *Int Urol Nephrol* 2018;50(4):583–603.
DOI: 10.1007/s11255-018-1839-4.
22. Kadioglu T.C., Aliyev E., Celtik M. Microscopic varicocelectomy significantly decreases the sperm DNA fragmentation index in patients with infertility. *Biomed Res Int* 2014;2014:695713.
DOI: 10.1155/2014/695713.
23. Garc a-Peir A., Ribas-Maynou J., Oliver-Bonet M. et al. Multiple determinations of sperm DNA fragmentation show that varicocelectomy is not indicated for infertile patients with subclinical varicocele. *Biomed Res Int* 2014;2014:181396.
DOI: 10.1155/2014/181396.
24. Baccetti B., Capitani S., Collodel G. et al. Recent advances in human sperm pathology. *Contraception* 2002;65(4):283–7.
DOI: 10.1016/s0010-7824(02)00290-1.
25. Visco V., Raffa S., Elia J. et al. Morphological sperm defects analyzed by light microscopy and transmission electron microscopy and their correlation with sperm motility. *Int J Urol* 2010;17(3):259–66.
DOI: 10.1111/j.1442-2042.2010.02451.x.
26. Collodel G., Iacoponi F., Mazzi L., Terzuoli G. Light, polarizing, and transmission electron microscopy: three methods for the evaluation of sperm quality. *Syst Biol Reprod Med* 2013;59(1):27–33.
DOI: 10.3109/19396368.2012.724518.
27. Moretti E., Sutura G., Collodel G. The importance of transmission electron microscopy analysis of spermatozoa: diagnostic applications and basic research. *Syst Biol Reprod Med* 2016;62(3):171–83.
DOI: 10.3109/19396368.2016.1155242.
28. Брагина Е.Е., Бочарова Е.Н. Количественное электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов при диагностике мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия* 2014;15(1):41–50. [Bragina E.E., Bocharova E.N. Quantitative electron microscopic examination of sperm for male infertility diagnosis. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2014;15(1):41–50. (In Russ.)].
29. Bragina E.E., Bocharova E.N. Ultrastructure of spermatozoa from infertility patients. In: *Spermatozoa – facts and perspectives*. Ed. by R. Meccariello, R. Chianese. IntechOpen, 2018. Pp. 71–99. DOI: 10.5772/intechopen.71596. Available at: <https://www.intechopen.com/books/spermatozoa-facts-and-perspectives/ultrastructure-of-spermatozoa-from-infertility-patients>.
30. Bartoov B., Eltes F., Pansky M. et al. Improved diagnosis of male fertility potential via a combination of quantitative ultramorphology and routine semen analyses. *Hum Reprod* 1994;9(11):2069–75.
31. Reichart M., Eltes F., Soffer Y. et al. Sperm ultramorphology as a pathophysiological indicator of spermatogenesis in males suffering from varicocele. *Andrologia* 2000;32(3):139–45.
32. Sadek A., Almohamdy A.S., Zaki A. et al. Sperm chromatin condensation in infertile men with varicocele before and after surgical repair. *Fertil Steril* 2011;95:1705–08.
DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.01.008.
33. Talebi A.R., Moein M.R., Tabibnejad N., Ghasemzadeh J. Effect of varicocele on chromatin condensation and DNA integrity of ejaculated spermatozoa using cytochemical tests. *Int J Androl* 2008;40:245–51.
DOI: 10.1111/j.1365-2605.2005.00515.x.
34. Cooper T.G. Cytoplasmic droplets: the good, the bad or just confusing? *Hum Reprod* 2005;20(1):9–11.
DOI: 10.1093/humrep/deh555.
35. Agarwal A., Gupta S., Sharma R. Oxidation-reduction potential measurement in ejaculated semen samples. In: *Andrological evaluation of male infertility: a laboratory guide*. Ed. by A. Agarwal, S. Gupta, R. Sharma. Cham: Springer International Publishing, 2016. Pp. 165–170.
36. Fujimoto S., Yoshida N., Fukui T. et al. Mammalian phospholipase C ζ induces oocyte activation from the sperm perinuclear matrix. *Dev Biol* 2004;274(2):370–83.
DOI: 10.1016/j.ydbio.2004.07.025.
37. Janghorban-Laricheh E., Ghazavi-Khorasgani N., Tavalaei M. et al. An association between sperm PLC ζ levels and varicocele? *J Assist Reprod Genet* 2016;33(12):1649–55.
DOI: 10.1007/s10815-016-0802-5.
38. Sanusi R., Yu Y., Nomikos M. et al. Rescue of failed oocyte activation after ICSI in a mouse model of male factor infertility by recombinant phospholipase C ζ . *Mol Hum Reprod* 2015;21(10):783–91.
DOI: 10.1093/molehr/gav042.
39. Боровец С.Ю., Рыбалов М.А., Горбачев А.Г., Аль-Шукри С.Х. Влияние препарата «Простатилен® АЦ» на фрагментацию ДНК сперматозоидов при лечении пациентов с хроническим абактериальным простатитом и сопутствующими нарушениями репродуктивной функции. *Андрология и генитальная хирургия* 2017;18(3):54–8. [Borovets S.Yu., Rybalov M.A., Gorbachev A.G., Al-Shukri S.Kh. Effect of Prostatilen® AC on sperm DNA fragmentation during treatment of patients with chronic nonbacterial prostatitis and concomitant disorders of the reproductive function. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2017;18(3):54–8. (In Russ.)].
40. Боровец С.Ю., Рыбалов М.А., Горбачев А.Г., Аль-Шукри С.Х. Влияние Простатилена АЦ на степень фрагментации ДНК сперматозоидов у больных хроническим абактериальным простатитом. *Урологические ведомости* 2018;8(специальный выпуск):24–5. [Borovets S.Yu., Rybalov M.A., Gorbachev A.G., Al-Shukri S.Kh. Influence of Prostatilen AC on the degree of sperm DNA fragmentation in patients with chronic abacterial prostatitis. *Urologicheskie vedomosti = Urological Statements* 2018;8(Спец. Issue):24–5. (In Russ.)].
41. Боровец С.Ю., Рыбалов М.А., Горбачев А.Г. и др. Отдаленные результаты лечения препаратом Простатилен® АЦ больных хроническим абактериальным простатитом с повышенной степенью фрагментации ДНК сперматозоидов. *Андрология и генитальная хирургия* 2018;19(2):52–7. [Borovets S.Yu., Rybalov M.A., Gorbachev A.G. et al. Long-term results of treatment of patients with chronic nonbacterial prostatitis and increased level of sperm DNA fragmentation with the Prostatilen® AC drug. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2018;19(2):52–7. (In Russ.)].



42. Боровец С.Ю., Рыбалов М.А., Горбачев А.Г., Аль-Шукри С.Х. Эффективность Простатилена АЦ в коррекции нарушений копулятивной функции больных хроническим абактериальным простатитом. Урологические ведомости 2019;9(спецвып.): 20–1.

[Borovets S.Yu., Rybalov M.A., Gorbachev A.G., Al-Shukri S.Kh. Effectiveness of Prostatilen AC in correction of copulatory function disorders in patients with chronic abacterial prostatitis. Urologicheskie vedomosti = Urological Statements 2019;9(Spec. Issue):20–1. (In Russ.)].

43. Agarwal A., Sharma R., Harlev A., Esteves SC. Effect of varicocele on semen characteristics according to the new 2010 World Health Organization criteria: a systematic review and meta-analysis. Asian J Androl 2016;18(2):163–70. DOI: 10.4103/1008-682X.172638.

Вклад авторов

О.Б. Жуков: разработка дизайна исследования, оперативное лечение больных, получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста статьи;

Е.Е. Брагина, А.В. Левина: разработка дизайна исследования, проведение электронно-микроскопического исследования сперматозоидов, получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста статьи.

Authors' contributions

O.B. Zhukov: development of study design, surgical treatment, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing;

E.E. Bragina, A.V. Levina: development of study design, electron microscopy, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing.

ORCID авторов/ORCID of authors

О.Б. Жуков/O.B. Zhukov: <https://orcid.org/0000-0003-3872-5392>

Е.Е. Брагина/E.E. Bragina: <https://orcid.org/0000-0002-8422-4962>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.