

АНОТАЦІЯ

Наконечний Й.А. Прогностичні фактори фертильного потенціалу чоловіків при первинному лівобічному варикоцеле та його динаміка в контексті хірургічного лікування. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2020.

У дисертації викладено клініко-статистичний аналіз результатів діагностики та оперативного лікування 214 хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст. у віці від 19 до 33 років зі супутньою суб- або інфертильністю впродовж одного року. Пацієнтів обстежували та лікували на базі урологічного відділення з кабінетом літотрипсії КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» з 2012 по 2019 роки: до лікування – I етап та не швидше як через 3 місяці після лапароскопічної резекції лівої внутрішньої сім'яної вени – II етап. Усім 214 хворим на лівобічне варикоцеле II-III ст. до оперативного лікування виконували дослідження еякуляту та повний спектр соноеластографічних досліджень. Серед обстежених до операції простим випадковим відбором виділено три підгрупи. Підгрупа 1В охоплювала 67 чоловіків, яким додатково проводили спектр біохімічних досліджень сироватки крові з внутрішньої сім'яної (sv) і кубітальної вен, а також сперматозоїдів (s). Серед останніх виокремлено: 2 підгрупу (1Im), яким, окрім вищевказаних обстежень, виконували імунологічне дослідження крові та сім'яної рідини (sp) – 36 пацієнтів та 3 підгрупу (1F), яким визначали фрагментацію ДНК сперматозоїдів та ще додатково низку біохімічних параметрів сім'яної рідини – 27 пацієнтів.

На II етапі 193 чоловікам виконували соноеластографічне обстеження та спермограму. У підгрупі 2В, а це 62 пацієнти, проводили комплекс біохімічних досліджень сироватки крові з кубітальної вени і сперматозоїдів (s). У підгрупі 2Im виконували комплекс імунологічних досліджень у крові та сім'яній рідині (sp) – 25 чоловіків. Та у підгрупі 2F визначали біохімічні показники у сім'яній рідині та фрагментацію ДНК сперматозоїдів – 15 пацієнтів.

Контрольну групу N склали 25 практично здорових чоловіків у віці від 19 до 33 років, які не мали захворювань, що можуть спричинювати непліддя, а 47% з них мали дітей. Останнім виконували спермограму, а також соноеластографічні та біохімічні дослідження сироватки крові та сперматозоїдів. У контрольній групі виокремили підгрупу NIm чисельністю 23 чоловіки, яким додатково провели імунологічні дослідження сироватки крові та сім'яної рідини, а також підгрупу NF з 12 добровольців, у яких вивчали біохімічні показники у сім'яній рідині і фрагментацію ДНК сперматозоїдів.

Обстеження хворих починали зі збору скарг, анамнезу та пальпації органів калитки і сім'яного канатика. УЗД з ефектом Допплера та якісною компресійною еластографією органів калитки виконували як комплексне сонологічне обстеження. За даними УЗД з доплерографією визначали об'єм яєчок (VT, мл), індекс резистентності (RI) в інтратестикулярних артеріях та діаметр варикозно-розширених вен лівого сім'яного канатика (гроноподібного сплетення) у стані спокою у горизонтальному положенні на спині з піднятим головним кінцем на 15° (VD, мм) і під час проби Valsalva у вертикальному положенні (VDvm, мм). Під час проби Valsalva оцінювали також тривалість (DVR, с) і швидкість (VRFvm, см/с) венозного рефлюксу (ретроградного кровоплину) крові в дилатованих венах. Одночасно з УЗД виконували еластографію лівого (Es) та контралатерального яєчок (Ed).

Аналіз еякуляту проводили згідно зі стандартами оцінки морфологічних характеристик сперми BOOЗ 2010 року. Серед них оцінювали об'єм (Vs, мл), абсолютну кількість сперматозоїдів (Qs, млн), відсоток (%) прогресивно рухливих (Ms), живих (Ls) та з нормальною морфологією (NMs), а також частку фрагментації ДНК сперматозоїдів (TUNEL).

При біохімічних дослідженнях визначали активність про-/антиоксидантів у сироватці крові кубітальної і лівої внутрішньої сім'яної вен, а також у сперматозоїдах. Зокрема, визначали активності глутатіонпероксидази (GP), глутатіонредуктази (GR) і глутатіон S-трансферази (GT), а також концентрації відновленого глутатіону (GSH) та малонового діальдегіду (MDA). Окрім цього, в

сперматозоїдах досліджували активності аргінази (Arg), конститутивної (cNOS) та індукцибельної (iNOS) ізоформ синтази оксиду азоту (NO-синтази), а також активності йон-транспортувальних систем натрій, калієвої (Na^+, K^+ -ATPase) та кальцій, магнієвої аденозинтрифосфатаз ($\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -ATPase). У сім'яній рідині визначали загальну антиоксидантну здатність (TAC), активності каталази (CAT), супероксиддисмутази (SOD) і α -глюкозидази (α -Glu), а також концентрації малонового діальдегіду (spMDA), фруктози (Fr) і лимонної кислоти (CA).

У сироватці периферійної крові та сім'яній рідині визначали концентрації цитокінів: IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-18, TNF- α , TGF- β 1, IFN- γ . У цільній периферійній крові вивчали абсолютні (Г/л) та відносні (%) значення популяцій лімфоцитів: Т-лімфоцитів CD3 $^+$, В-лімфоцитів CD19 $^+$, натуральних кілерів/кілерів – NK/К-клітин CD16 $^+$ /CD56 $^+$; субпопуляцій Т-лімфоцитів: Т-лімфоцитів хелперів CD4 $^+$, Т-лімфоцитів-цитотоксичних CD8 $^+$, Т-лімфоцитів регуляторних CD4 $^+$ /CD25 $^+$ та Т-лімфоцитів хелперів не активованих CD4 $^+$ /CD25 $^-$; а також Т-лімфоцитів, які експресують пізній активаційний маркер CD3 $^+$ HLA-DR $^+$, та популяцію клітин без Т-лімфоцитів, які експресують пізній активаційний маркер, імовірно В-лімфоцити CD3 $^-$ HLA-DR $^+$.

Такий широкий спектр лабораторно-інструментальних обстежень обумовлений необхідністю поглиблення знань про дискусійні питання патогенезу порушень фертильного потенціалу у чоловіків з первинним лівобічним варикоцеле.

За результатами дисертації отримані нові дані про патогенетичні механізми порушень фертильного потенціалу у чоловіків з лівобічним варикоцеле. Зокрема, що погіршення гемодинаміки у сім'яному канатику і яєчку супроводжується комплексним порушенням активності низки ензимів сироватки внутрішньої сім'яної вени, сперматозоїдів і сім'яної плазми з паралельними взаємообумовленими змінами рівнів імунокомпетентних клітин і про- та антизапальних цитокінів у сироватці периферійної крові і сім'яній рідині.

Розширені наукові знання про високу ефективність безпечного неінвазивного діагностичного методу – якісної соноеластографії для прогнозування імовірності ураження тканини яєчка при варикоцеле. Вперше у чоловіків з варикоцеле за типом

еластографічних зображень оцінено структурний стан тканини ураженого лівого яєчка з констатацією позитивної динаміки після лапароскопічної варикоцелектомії.

Для хворих на варикоцеле притаманна низька еластичність лівого яєчка – 4 бали (3; 4), $p_{I,N} < 0,001$, $p_{II,N} < 0,022$ з порогом відсікання > 2 балів, $Se = 98,6$ [96-99,7], $Sp = 80$ [59,3-93,2], яка відновлюється після лапароскопічної варикоцелектомії – 2 бали (2; 3), $p_{I,II} < 0,001$. Доведено, що еластографія яєчок є доступним неінвазивним діагностичним методом динамічного спостереження за станом паренхіми яєчок у хворих на варикоцеле, яка об'єктивізує покази до варикоцелектомії та оцінює її ефективність.

Уточнені наукові дані про механізми формування імунозалежного непліддя у хворих на лівобічне варикоцеле за характерними зсувами рівня низки цитокінів сироватки периферійної крові і сім'яної рідини у ракурсі показів до хірургічного лікування. Про стан імунної відповіді з ризиком старту автоімунного синдрому у хворих свідчить статистично високозначущий ($p_{I,N} < 0,001$) зсув цитокінового профілю в сторону активації: у сироватці периферійної крові та сім'яній рідині суттєво підвищені рівні IL-6 – відповідно 4,72 пг/мл (2,33; 7,2) і 95,6 пг/мл (74,8; 126,1) та IL-18 – 296,6 пг/мл (245,62; 355,85) і 21,33 пг/мл (14,17; 27,05); у сироватці периферійної крові значно більший за норму IFN- γ – 18,81 пг/мл (14,35; 23,82) і у сім'яній рідині spTNF- α – 21,1 пг/мл (16,17; 23,28); в еякуляті відчутно низький spTGF- $\beta 1$ – 95,25 пг/мл (78,18; 105,58).

Вперше обґрунтовано прогностичні маркери фертильного потенціалу у хворих на лівобічне варикоцеле II-III ст. за показниками соноеластограми сім'яного канатика і яєчка, спермограми, про-/антиоксидантної L-аргінін/NO, іон-транспортувальної та імунної систем у різних біологічних тканинах пацієнтів, які є ранніми діагностичними критеріями ураження яєчок та імовірного порушення фертильного потенціалу.

У хворих на лівобічне варикоцеле вагомими прогностичними маркерами ураження яєчок за результатами соноеластографії є: RI інтратестикулярних артерій понад 0,66, VD більший за 2,4 мм та VDvm більший за 3 мм, VRFvm вища за 2 см/с,

DVR довша за 1,1 с та еластограма лівого яєчка понад 2 бали, а серед показників спермограми – Qs на рівні 41,3 млн та менше.

До сильних прогностичних факторів фертильного потенціалу у чоловіків з варикоцеле слід віднести: у сироватці внутрішньої сім'яної вени активність svGP 148,55 нмоль GSH/хв×г Hb та менше, svGR 32,7 мкмоль NADPH/хв×г Hb та менше, svGT 137 нмоль GSH/хв×г Hb та менше; у сперматозоїдах – концентрацію sMDA понад 181 нмоль/мг протеїну, активність sGP 4,7 мкмоль GSH/хв×мг протеїну та менше, Arg 46 нмоль сечовини/хв×мг протеїну та менше, iNOS понад 1,2 пмоль цитруліну/хв×мг протеїну та cNOS 4,4 пмоль цитруліну/хв×мг протеїну та менше, Na⁺,K⁺-ATPase 37 нмоль P_i/хв×мг протеїну та менше, а також у сім'яній рідині – TAC 1760 μM та менше.

Прогностичними критеріями формування імунозалежного непліддя у хворих на лівобічне варикоцеле зарекомендували себе: у сироватці периферійної крові рівень IFN-γ вищий за 12,4 пг/мл, а у сім'яній рідині – spIL-6 понад 49,5 пг/мл.

У дисертації вивчено широкий спектр кореляційних взаємозв'язків між патогенетичними факторами репродуктивної системи чоловіків з лівобічним варикоцеле, а саме серед показників соноеластографії, еякуляту, біохімічних та імунологічних досліджень. У чоловіків з лівобічним варикоцеле II-III ст. особливо значущі вірогідні ($p < 0,05$) кореляційні зв'язки притаманні активності ензимів різних біологічних тканин і особливо сперматозоїдів. Найбільш вираженими є сильні кореляції серед ензимів сперматозоїдів. Це пряма кореляція між концентрацією sGSH і активністю Arg – 0,96 та обернена між концентрацією sMDA і активністю Na⁺,K⁺-ATPase плазматичної мембрани сперматозоїдів – $r = -0,93$, а також активності cNOS з низкою ензимів: прямі з концентрацією sGSH, активністю Arg та Na⁺,K⁺-ATPase – 0,94, а обернені такої ж щільності з концентрацією sMDA – $r = -0,94$. Серед сонологічних параметрів найсильніший позитивний кореляційний зв'язок характерний для VD та VD_{vm} – 0,89 та відчутно слабший між еластограмою лівого яєчка і DVR – 0,61.

Особливо вагомі вірогідні ($p < 0,05$) кореляційні взаємозв'язки у хворих на варикоцеле характерні для DVR щодо активності ензимів. Серед них це обернені

кореляції з активністю у сперматозоїдах cNOS – $r=-0,96$, Arg – $r=-0,94$, Na^+, K^+ -ATPase – $r=-0,95$ та $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -ATPase – $r=-0,91$, sGR – $r=-0,92$ і sGP – $r=-0,91$. Окрім цього, DVR від’ємно корелює з концентрацією GSH сперматозоїдів – $r=-0,95$ і сироватки внутрішньої сім’яної вени – $r=-0,92$, натомість позитивно з концентрацією MDA відповідно до вищенаведених біологічних субстратів – 0,93 та 0,9. DVR має також від’ємний кореляційний зв’язок із Qs – $r=-0,88$.

Біохімічні показники у хворих на варикоцеле найбільш активно корелюють із Qs. У сироватці внутрішньої сім’яної вени виявлено вірогідні ($p<0,05$) сильні від’ємні кореляційні зв’язки з концентрацією svMDA – $r=-0,83$ та позитивні з активністю svGT – 0,83 і концентрацією svGSH – 0,82. Дещо вищі значення коефіцієнта кореляції зафіксовані за Qs щодо активності ензимів сперматозоїдів і переважно з позитивним напрямом, а саме стосовно: sGSH – 0,87, cNOS – 0,86, Na^+, K^+ -ATPase – 0,85, sGR – 0,84, sGP – 0,83, а також Arg та $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -ATPase – по 0,82. Окрім цього, з активністю iNOS та концентрацією sMDA отримано практично тотожні, але від’ємні кореляційні зв’язки – по $r=-0,84$.

Наведені множинні перехресні кореляційні взаємозв’язки між показниками спермограми, про-/антиоксидантної, L-аргінін/NO, іон-транспортувальної та імунної систем свідчать про поліетіологічність чинників формування непліддя у хворих на варикоцеле. Активація прооксидантних механізмів та гіперпродукція прозапальних цитокінів при варикозному розширенні вен сім’яного канатика створюють передумови до автоагресії, формуючи загрози щодо фертильного потенціалу чоловіків, незважаючи на варикоцелектомію. Особливо це стосується чоловіків, в яких після варикоцелектомії утримується недостатність тотальної антиоксидантної здатності та активація імунної системи з підвищеною продукцією прозапальних цитокінів у периферійній крові $\text{IFN-}\gamma > 12,4$ пг/мл і у сім’яній плазмі – $\text{spIFN-}\gamma > 64,1$ пг/мл та $\text{spIL-6} > 49,5$ пг/мл.

Ключові слова: варикоцеле, лапароскопічна варикоцелектомія, еластографія яєчок, оксидативний стрес, імунозалежне непліддя, прогностичні маркери фертильного потенціалу.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

• **Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. **Наконечний Й. А.** Прогностичні фактори непліддя за показниками про-/антиоксидантної системи у чоловіків з лівобічним варикоцеле. *Acta Medica Leopoliensia*. 2019. Т. XXV, № 1. С. 39-48. doi: 10.25040/aml2019.01.039.
2. **Наконечний Й. А.,** Воробець Д. З. Соноеластографічні предиктори чоловічого непліддя при первинному лівобічному варикоцеле. *Здоров'я чоловіка*. 2018. Т. 64, № 1. С. 121-126. *(Особистий внесок – самостійно зібрав клінічний матеріал, провів статистичну обробку та аналіз результатів, підготував матеріал до друку).*
3. Інтенсивність процесів ліпопероксидації у сперматозоїдах чоловіків із порушенням фертильності / Р. В. Фафула, О. К. Онуфрович, У. П. Єфремова, **Й. А. Наконечний,** З. Д. Воробець. *Вісник проблем біології і медицини*. 2017. Випуск 1 (135). С. 199-204. *(Особистий внесок – провів статистичну обробку, аналіз і верифікацію даних результатів діагностики та лікування).*
4. Крипторхізм та варикоцеле: ще один погляд на причини старту аутоагресії / А. М. Гаврилюк, В. В. Чоп'як, **Й. А. Наконечний,** А. Й. Наконечний, М. Фрончек, М. Курпіш. *Хірургія дитячого віку*. 2017. Т. 56, № 3. С. 75-83. doi: 10.15574/PS.2017.56.75. *(Особистий внесок – взяв участь в аналізі літературних джерел та організації дослідження, написанні статті, формулюванні заключень).*
5. Активність глутатіон-залежних ензимів сперматозоїдів за умов патоспермії / О. К. Онуфрович, Р. В. Фафула, **Й. А. Наконечний,** Д. З. Воробець, У. П. Єфремова, З. Д. Воробець. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 4. С. 5-10. *(Особистий внесок – приймав участь зборі клінічного матеріалу, верифікації лабораторних даних та формуванні заключень).*
6. Антиспермальні антитіла у чоловіків з непліддям різного генезу / А. М. Гаврилюк, В. В. Чоп'як, **Й. А. Наконечний,** М. З. Камєнічна, М. З. Курпіш. *Урологія*. 2014. Т. 18, № 3 (70). С. 17-25. *(Особистий внесок – приймав участь в організації дослідження, верифікації даних діагностики та лікування, написанні і публікації статті).*

7. Стан імунної системи у хворих на варикоцеле в динаміці лікування / А. М. Гаврилюк, В. В. Чоп'як, А. Й. Наконечний, **Й. А. Наконечний**, М. Курпіш. *Імунологія та алергологія. Наука і практика*. 2014. № 2. С. 21-27. (Особистий внесок – проаналізував літературу, брав участь в обробці лабораторного матеріалу, виконав статистичну обробку та аналіз результатів).
8. Иммунопатогенетические прогностические факторы фертильного потенциала у мужчин с левосторонним варикоцеле / И. А. Наконечный, А. М. Гаврилюк, А. И. Наконечный, В. В. Чопяк, М. М. Курпиш. *Новости хирургии*. 2019. Т.27, № 6. С. 662-673. (Scopus). doi: 10.18484/2305-0047.2019.6.662. (Особистий внесок – проаналізував літературні джерела, зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку та оцінку результатів, готував статтю до друку).
9. Kinetic properties of Na^+, K^+ -ATPase of spermatozoa from fertile and infertile men under effect of calix[4]arene C-107 / R. V. Fafula, O. I. Meskalo, A. S. Besedina, **Ю. А. Nakonechnyi**, D. Z. Vorobets, Z. D. Vorobets. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2019. Vol. 91, № 3. P. 56-64. (Scopus). doi: 10.15407/ubj91.03.056. (Особистий внесок – проаналізував літературні джерела, провів оцінку результатів, взяв участь у формулюванні заключень та публікації статті).
10. Alterations in arginase-No-synthase system of spermatozoa in human subjects with different fertility potential / R. V. Fafula, U. P. Iefremova, O. K. Onufrovych., H. V. Maksymyuk, A. S. Besedina, **Ю. А. Nakonechnyi**, D. Z. Vorobets, Z. D. Vorobets. *Journal of Medical Biochemistry*. 2018. Vol. 37, № 2. P. 1-7. (Scopus). doi: 10.1515/jomb-2017-0049. (Особистий внесок – брав участь у підготовці та обробці лабораторного матеріалу, розробці дизайну дослідження, підготовці статті до друку).
11. Prooxidant/antioxidant balance in sperm cells of infertile men / R. V. Fafula, O. K. Onufrovych, U. P. Iefremova, M. Z. Vorobets, **Ю. А. Nakonechnyi**, O. V. Melnyk, Z. Ya. Fedorovych, Z. D. Vorobets. *Світ медицини та біології*. 2018. Vol. 66, № 4. P. 120-124. (Web of Science). doi: 10.26724/2079-8334-2018-4-66-120-124. (Особистий внесок – взяв участь в аналізі літературних джерел, організації дослідження та формулюванні заключень).

12. *Glutathione content in sperm cells of infertile men* / R. V. Fafula, O. K. Onufrovych, U. P. Iefremova, O. V. Melnyk, **I. A. Nakonechnyi**, D. Z. Vorobets, Z. D. Vorobets. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2017. Vol. 2, № 8. P. 157-161. (Web of Science). doi: 10.15421/021725. (Особистий внесок – провів оцінку результатів, брав участь у розробці дизайну дослідження та підготовці статті до друку).

13. Effect of hydrogen peroxide on Na⁺,K⁺-ATPase activity in spermatozoa of infertile men / R. V. Fafula, O. I. Meskalo, E. I. Lychkovskyy, U. P. Iefremova, O. K. Onufrovych, H. V. Maksymyuk, O. V. Melnyk, **Y. A. Nakonechnyi**, D. Z. Vorobets. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2017. Vol. 2, № 8. P. 521-526. (Web of Science). doi: 10.15421/021780. (Особистий внесок – взяв участь у забезпеченні лабораторним матеріалом, верифікації даних діагностики та лікування, організації дослідження).

• **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

14. Чоп'як В. В., Гаврилюк А. М., Курпіш М., **Наконечний Й. А.**, Кріль І. Й. Спосіб прогнозування формування імунно-залежного непліддя у хворих після варикоцелектомії: пат. 102086 Україна. № у 2015 04540; заявл. 12.05.2015; опубл. 12.10.2015, Бюл. № 19. (Особистий внесок – брав участь в патентному пошуку, організації дослідження, оформленні патенту).

15. Participation of genital heat stress in the etiology of sperm parameter disorders / M. Frączek, M. Budzińska, M. Kamieniczna, Ł. Wojnar, L. Grześkowiak, M. Piasecka, K. Gill, M. Kupś, V. Chopyak, A. Havrylyuk, A. Nakonechnyy, **J. Nakonechnyy**, M. Kurpish. *Konferencja Polskiego Towarzystwa Andrologicznego – 21. Dzień Andrologiczny*, Łódź, Polska, 25-27 października 2019 r. Łódź, 2019. P. 28. (Особистий внесок – приймав участь в інтерпретації клінічного і лабораторного матеріалу, верифікації даних, підготовці матеріалів до друку).

16. **Наконечний Й. А.** Кореляційні зв'язки між імунологічними та біохімічними показниками у хворих на лівобічне варикоцеле. «Інноваційні технології в хірургії та анестезіології і інтенсивній терапії дитячого віку»: збірник наукових праць за матеріалами науково-практичної конференції, Київ, 18-19 жовтня 2019 р. Київ, 2019. С. 112-114.

17. **Наконечний Й. А.** Асоціативні взаємозв'язки цитокінів, популяцій лімфоцитів та субпопуляцій т-лімфоцитів у чоловіків з лівобічним варикоцеле щодо параметрів соноеластограми органів калитки. *Урологія, андрологія, нефрологія – досягнення, проблеми, шляхи вирішення*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, Харків, 30-31 травня 2019 р. Харків, 2019. С. 161.

18. Związek wybranych markerów apoptozy plemników oraz parametrów stresu oksydacyjnego z jakością nasienia u mężczyzn narażonych na czynnik temperaturowy jąder / M. Budzińska, M. Frączek, M. Kamieniczna, Ł. Wojnar, L. Grześkowiak, K. Gill, M. Piasecka, M. Kupś, A. Havrylyuk, **J. Nakonechnyy**, A. Nakonechnyy, V. Chopyak, M. Kurpisz. *Konferencja Polskiego Towarzystwa Andrologicznego – 20. Dzień Andrologiczny oraz VI Konferencja Naukowo Szkoleniową Innowacyjne Technologie w Medycynie – Dni Trzech Kultur*, Lublin, Polska, 26-27 października 2018 r. *Advances in Andrology Online*. 2018. Vol. 5, № 2. P. 7-8. (Особистий внесок – брав участь в аналізі літературних джерел, формулюванні висновків, публікації матеріалів).

19. Przeciwciała przeciwplemnikowe a hipertermia jąder / M. Kamieniczna, M. Frączek, M. Budzińska, Ł. Wojnar, L. Grześkowiak, K. Nowicka-Bauer, K. Gill, M. Piasecka, M. Kupś, A. Havrylyuk, **J. Nakonechnyy**, A. Nakonechnyy, V. Chopyak, M. Kurpisz *Konferencja Polskiego Towarzystwa Andrologicznego – 20. Dzień Andrologiczny oraz VI Konferencja Naukowo Szkoleniową Innowacyjne Technologie w Medycynie – Dni Trzech Kultur*, Lublin, Polska, 26-27 października 2018 r. *Advances in Andrology Online*. 2018. Vol. 5, № 2. P. 12. (Особистий внесок – брав участь в організації дослідження, верифікації даних діагностики та лікування, статаналізі, підготовці матеріалів до друку).

20. **Nakonechnyi Y.A.** Correlation relationship between enzym's activities and sonoelastogram parammetrs in patients with left-side varicocele grade II-III. *II Polsko-Ukraińskie Dni Chirurgii Dziecięcej*, Lublin, Polska, 12-13 października 2018 r. *Standardy Medycyny – Problemy Chirurgii Dziecięcej*. 2018. T. 8, № 1. P. 74.

21. Analysis of selected parameters of oxidative stress and sperm apoptosis in semen of men exposed to both external or internal genital heat stress / M. Fraczek, M. Budzinska, M. Kamieniczna, M. Piasecka, A. Havrylyuk, K. Gill, L. Wojnar, L. Grzeskowiak,

M. Kups, **Y. Nakonechnyi**, A. Nakonechnyi, V. Chopyak, M. Kurpysz. *Abstracts of the 10th Congress of the European Academy of Andrology*, Budapest, Hungary, 11-13 October 2018. Budapest, 2018. *Andrology*. 2018. Vol. 6 (Suppl.). P. 100-101. (Scopus). (Особистий внесок – брав участь в аналізі літератури, верифікації даних діагностики та лікування, статаналізі, підготовці матеріалів до друку).

22. Antisperm antibodies are not frequently induced in semen of men with testicular hyperthermia / M. Kamieniczna, M. Fraczek, M. Budzinska, L. Wojnar, **Y. Nakonechnyy**, L. Grzeskowiak, K. Gill, A. Havrylyuk, K. Nowicka-Bauer, M. Piasecka, A. Nakonechnyy, V. Chopyak, M. Kurpysz. *Abstracts of the 15th Conference of the European Society for Reproductive Immunology (ESRI)*, Aalborg, Denmark, 28-31 August 2018. *Journal of Reproductive Immunology*. 2018. Vol. 128. P. 64. (Scopus). doi: 10.1016/j.jri.2018.05.011. (Особистий внесок – приймав участь в організації дослідження, інтерпретації даних діагностики та лікування, підготовці матеріалів до друку).

23. **Nakonechnyi Y. A.**, Vorobets D. Z. Prognostic value of the testicle elastography in patients with primary varicocele. *A Book of Abstracts: the 48th Scientific Congress of the Polish Urological Association*, Katowice, Poland, 11-14 June 2018. Katowice, Poland, 2019. P. 13. (Особистий внесок – особисто провів аналіз літератури, самостійно зібрав клінічний матеріал, провів оцінку результатів, підготував матеріал до друку та виконав презентацію роботи).

24. **Наконечний Й. А.**, Воробець Д. З. Діагностичне значення еластографії яєчок при первинному варикоцеле. *Урологія, андрологія, нефрологія – досягнення, проблеми, шляхи вирішення: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю*, Харків, 24-25 травня 2018 р. Харків, 2018. С. 163-164. (Особистий внесок – провів аналіз літератури, самостійно зібрав клінічний матеріал, провів оцінку результатів, підготував презентацію і друк матеріалу).

25. Pro-oxidant/antioxidant system in spermatozoa of infertile men U. P. Iefremova, M. Z. Vorobets, **I. A. Nakonechnyi**, R.V. Fafula, O. K. Onufrovych, O.V. Melnyk / *XVII International Congress of Medical Sciences: Abstract Book*, Sofia, Bulgaria, 10-13 May

2018. Sofia, 2018. P. 78. *(Особистий внесок – аналізував літературні джерела, інтерпретував отримані результати, формулював висновки).*

26. **Наконечний Й. А.**, Воробець Д. З. Можливості соноеластографії яєчка при варикоцеле. *Урологія, андрологія, нефрологія: матеріали ювілейної науково-практичної конференції*, Харків, 5-6 жовтня 2017 р. Харків, 2017. С. 105-106. *(Особистий внесок – провів аналіз літератури, самостійно зібрав клінічний матеріал, робив статистичний аналіз та оцінку результатів, підготував презентацію та матеріал до друку).*

27. *Glutathione-dependent enzymes activity and glutathione content in sperm cells in patients with pathospermia* / Z. D. Vorobets, O. K. Onufrovych, **Y. A. Nakonechnyi**, D. Z. Vorobets. *The 8th Lviv-Lublin conference of experimental and clinical biochemistry: programme and book of abstracts*, Lublin, Poland, 18-20 September 2017. Lublin, 2017. P. 32. *(Особистий внесок – брав участь в аналізі літературних джерел і отриманих даних, формулюванні висновків, підготовці матеріалу до друку).*

28. Функціонування глутатіонової антиоксидантної системи сперматозоїдів за умов патоспермії / О. К. Онуфрович, Р. В. Фафула, **Й. А. Наконечний**, У. П. Єфремова. *IV Всеукраїнська наукова конференція студентів та молодих вчених з фізіології з міжнародною участю*, Харків, 16 травня 2017 р. Харків, 2017. С. 97-98. *(Особистий внесок – проаналізував літературні джерела, результати досліджень та верифікував отримані дані).*

29. Na,K-ATPase activity in sperm cells of infertile men / O. I. Meskalo, R. V. Fafula, U. P. Iefremova, **Io. A. Nakonechnyi**, D. Z. Vorobets. *XVI International Congress of Medical Sciences: Abstract Book*, Sofia, 11-14 May 2017. Sofia, Bulgaria, 2017. P. 110. *(Особистий внесок – брав участь в аналізі літературних джерел, розробці дизайну дослідження, інтерпретації результатів, формулюванні висновків).*

30. Lipid peroxidation in ejaculated spermatozoa of infertile men with different forms of patospermia / U. P. Iefremova, O. K. Onufrovych, R. V. Fafula, **Io. A. Nakonechnyi**, D. Z. Vorobets. *XVI International Congress of Medical Sciences: Abstract Book*, Sofia, 11-14 May 2017. Sofia, Bulgaria, 2017. P. 120. *(Особистий внесок – приймав участь*

в організації дослідження, зборі клінічного і лабораторного матеріалу, верифікації даних).

31. Evaluation of local and systemic immunity in patients with varicocele at stages of surgical treatment / A. Havrylyuk, V. Chopyak, **J. Nakonechnyi**, A. Nakonechnyi, I. Kril, M. Lomikovska, M. Kurpisz. *XV Jubileuszowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Chirurgów Dziecięcych*, Gdańsk, Polska, 18-20 września 2014 r. *Standardy Medycyny – Problemy Chirurgii Dziecięcey*. 2014. T. 4, № 1. P. 56. (Особистий внесок – брав участь в аналізі літературних джерел, розробці дизайну дослідження, верифікації даних, статаналізі та підготовці статті до публікації).

• **Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

32. **Наконечний Й. А.** Кореляційні зв'язки активності ензимів про-/антиоксидантної системи сперматозоїдів щодо соноеластографічних параметрів у пацієнтів з клінічним лівобічним варикоцеле. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*. 2019. № 1/1. С. 60-64.

33. **Наконечний Й. А.**, Габріель М. В., Воробець Д. З. Еластографія органів калитки при первинному варикоцеле. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*. 2017. № 2 (1). С. 167-174. (Особистий внесок – самостійно зібрав клінічний матеріал, провів статистичну обробку та оцінку результатів, підготував статтю до друку).

34. Вплив хірургічного лікування на показники місцевого та системного імунітету у хворих на варикоцеле / А. М. Гаврилюк, В. В. Чоп'як, **Й. А. Наконечний**, А. Й. Наконечний, І. Й. Кріль, М. П. Ломіковська, М. Курпіш. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*. 2014. № 3/1. С. 107-110. (Особистий внесок – брав участь в аналізі літератури, розробці дизайну та організації дослідження, публікації статті).

36. Вплив варикоцеле на чоловічу репродуктивну функцію / А. М. Гаврилюк, В. В. Чоп'як, І. Й. Кріль, М. П. Ломіковська, А. Й. Наконечний, **Й. А. Наконечний**, М. Курпіш. *Медичні аспекти здоров'я чоловіка*. 2013. Т. 10, № 4. С. 35-42. (Особистий внесок – виконав аналіз літератури, статистичну обробку і описання результатів).

36. **Наконечний Й. А.,** Воробець Д. З., Наконечний А. Й. Прогностичні фактори непліддя за показниками про-/антиоксидантної системи у чоловіків із лівобічним варикоцеле: інформаційний лист / Львівський національний університет імені Данила Галицького. Вип. 2 з проблеми «Урологія». Київ, 2019. № 117. 5 с. Реєстр нововведень № 272/6/19. *(Особистий внесок – проаналізував літературу, зібрав клінічний матеріал, провів оцінку результатів, підготував матеріал до друку).*

37. **Наконечний Й. А.** Соноеластографічні предиктори чоловічого непліддя у чоловіків з варикоцеле: інформаційний лист / Львівський національний університет імені Данила Галицького. Вип. 3 з проблеми «Урологія». Київ, 2019. № 118. 5 с. Реєстр нововведень № 271/6/19.

ANNOTATION

Nakonechnyi Y.A. Fertility potential prognostic factors in men with primary left-sided varicocele and it's dynamic in context of surgical treatment. – Qualified scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for a doctor of Philosophy degree in specialty 222 – Medicine. Danylo Halytsky National Medical University Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2020.

The dissertation presents the clinical and statistical analysis of the diagnostic results and surgical treatment of 214 patients with left-sided varicocele grade II-III, aged from 19 to 33 years with concomitant sub- or infertility for a 1 year. Patients were examined and treated at urological department with the lithotripsy cabinet Lviv Regional Hospital from 2012 to 2019: before treatment – Stage I and no sooner than 3 months after laparoscopic varicocelectomy – Stage II. All 214 patients with left-sided varicocele grade II-III underwent semen analysis and a full range of sonoelastographic studies before surgery.

Three subgroups were identified by simple random selection. Subgroup 1B included 67 men, where additional biochemical studies of serum from the left internal spermatic (sv) and cubital veins, as well as spermatozoons (s) were done. Among the latter were made: the second subgroup (1Im), in which, in addition to the above examinations, immunological examination in blood and seminal plasma (sp) were done in 36 patients; and the third subgroup (1F), where sperm DNA fragmentation and a number of additional oxidative stress parameters in the seminal plasma were determined in 27 patients.

At II stage, 193 men underwent semen analysis and a full range of sonoelastographic examination. In subgroup 2B, which included 62 patients, a complex of biochemical studies of the blood serum from cubital vein and spermatozoons (s) were performed. In subgroup 2Im immunological tests in blood and seminal plasma (sp) were done in 25 men. In subgroup 2F biochemical parameters were determined in the seminal plasma as well as sperm DNA fragmentation in 15 patients.

The control group N consisted from 25 practically healthy men aged from 19 to 33 years without any diseases that causes infertility; 47% of them, had already offspring. For the last ones, spermogram, sonoelastographic and biochemical studies of the blood, as well as spermatozoons were performed. In control group were made: subgroup NIm, that consisted from 23 men, in which, additionally immunological studies in blood and seminal plasma were done; and subgroup NF, made of 12 volunteers, in which, biochemical indices in the seminal plasma and sperm DNA fragmentation were studied.

Patients examination started with the analyze of complaints, medical histories as well as palpation of the scrotum organs and spermatic cord. Ultrasonographic examination with Doppler effect and qualitative compression elastography of the scrotum organs were performed as a comprehensive sonological examination. The testes volume (VT, ml), resistance index in the intratesticular arteries (RI), and diameter of the varicose-dilated veins of the left spermatic cord (pampiniform plexus) in a horizontal position on the back with the up main end at 15^0 (VD, mm) at rest and during the Valsalva maneuver in the upright position (VDvm, mm), as well as duration (DVR, s) and velocity (VRFvm, cm/s) of venous blood reflux (retrograde blood flow) were measured during the Doppler ultrasound examination. Simultaneously, elastography of the left (Es) and contralateral testis (Ed) was performed.

The semen analysis was done according to the WHO 2010 Sperm Morphological Evaluation Standards. In the study were analyzed: volume (Vs, ml), absolute sperm count (Qs, millions), percentages (%) of alive (Ls), with progressive motile (Ms), and normal morphology (NMs), as well as proportion of sperm DNA fragmentation (TUNEL).

During the biochemical studies, pro-/antioxidants activities in spermatozoons, as well as in the cubital and left internal spermatic veins were determined. In particular, the activities of glutathione peroxidase (GP), glutathione reductase (GR) and glutathione S-transferase (GT), as well as the concentrations of reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) were determined. In addition, the activity of arginase (Arg), constitutive (cNOS) and inducible (iNOS) isoforms of nitric oxide synthase (NO synthase), as well as the activity of ion-transport systems of sodium, potassium (Na^+, K^+ -ATPase) and calcium, magnesium ($\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -ATPase) adenosine triphosphatase were

determined in spermatozoons. The total antioxidant capacity (TAC), activities of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and α -glucosidase (α -Glu), as well as concentrations of malondialdehyde (spMDA), fructose (Fr) and citric acid (CA), were determined in the seminal plasma.

In the peripheral blood and seminal plasma, concentration of cytokines: IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-18, TNF- α , TGF- β 1, IFN- γ were measured. In the peripheral blood, we also analyzed absolute (g/l) and relative (%) indices of the lymphocytes populations: T-lymphocytes CD3⁺, B-lymphocytes CD19⁺, natural killers – NK/K-cells CD16⁺/CD56⁺; T-lymphocytes subpopulations: helper T-lymphocytes CD4⁺, cytotoxic T-lymphocytes CD8⁺, regulatory T-lymphocytes CD4⁺/CD25⁺ and non-activated helper T-lymphocytes CD4⁺/CD25⁻; as well as T-lymphocytes expressing the late activation marker CD3⁺HLA-DR⁺, and a population of cells without T-lymphocytes, expressing a late activation marker, probably B-lymphocytes CD3⁻HLA-DR⁺.

So wide range of laboratory-instrument examination were done due a necessity of knowledge development about the controversial questions of fertility potential violation pathogenesis in men with primary left-sided varicocele.

According to the dissertation results, new data about pathogenetic mechanisms of fertility potential disruptions in men with left-sided varicocele were obtained. In particular, spermatic cord and the testicle hemodynamics deteriorations are accompanied by a complex disturbance of the enzymes activity in the bloods serum from left testicular vein, spermatozoons and seminal plasma with parallel interrelated changes in the levels of immunocompetent cells and cytokines in the peripheral blood serum and seminal plasma.

Were advanced scientific knowledge about the effectiveness of a safe, non-invasive, diagnostic method – qualitative sonoelastography to predict the likelihood of the testicular tissue damages in varicocele. For the first time in men with varicocele the structural state of the affected, left testicle tissue, by the type of elastographic images, at the stages of laparoscopic varicocelectomy were evaluated, with a statement of the positive dynamics after surgical treatment.

Left testicle lower elasticity to 4 points (3; 4), $p_{I,N} < 0,001$, $p_{II,N} < 0,022$, was observed in varicocele patients, with the restore to 2 points (2; 3), $p_{I,II} < 0,001$ after surgery. Testicular elastography has been proven to be an obtainable, non-invasive diagnostic method for dynamic monitoring of the testicular parenchyma condition in patients with varicocele, that objectifies the indications for varicocelectomy and evaluates its effectiveness.

Scientific data on mechanisms of immune-dependent infertility formation in patients with left-sided varicocele were clarified due to typical shifts of the cytokines levels in peripheral blood serum and seminal plasma in context the indication for surgery. On the immune response state, with the risk of autoimmune syndrome onset in patients were indicated by statistically significant ($p_{I,N} < 0,001$) cytokine profile shift towards activation: in peripheral blood serum and seminal plasma, were significantly higher levels of IL-6 – 4,72 pg/ml (2,33; 7,2) and 95,6 pg/ml (74,8; 126,1) respectively; IL-18 – 296,6 pg/ml (245,62; 355,85) and 21,33 pg/ml (14,17; 27,05); in the peripheral blood serum significantly higher to norm was IFN- γ – 18,81 pg/ml (14,35; 23,82) and in the seminal plasma spTNF- α – 21,1 pg/ml (16,17; 23,28); in ejaculate markedly low spTGF- β 1 – 95,25 pg/ml (78,18; 105,58).

Fertile potential prognostic markers in patients with left-sided varicocele grade II-III for the first time were substantiated according to sonoelastograms of the spermatic cord and testicle, spermogram, pro-/antioxidant L-arginine/NO, ion-transport and immunological systems in various biological substances, which are the early diagnostic criteria for the testes affection and probable fertility potential violation.

In patients with left-sided varicocele significant prognostic markers of testicular lesions according to sonoelastography results were: intratesticular arteries RI more than 0,66, VD bigger than 2,4 mm, VDvm higher than 3 mm, VRFvm higher than 2 cm/s, DVR longer than 1,1 s and left testicle elastogram more than 2 points as well as a Qs level – 41,3 million or less among the sperm parameters.

The strong fertile potential prognostic factors in men with varicocele were: in the internal spermatic vein serum activities of: svGP 148,55 nmol GSH/min $\times$ g Hb and less, svGR 32,7 μ mol NADPH/min $\times$ g Hb and less, svGT 137 nmol GSH/min $\times$ g Hb and less;

in spermatozoas – sMDA concentration exceeding 181 nmol/mg protein, sGP activity 4,7 μ mol GSH/min $\times$ mg protein and less, Arg 46 nmol urea/ min $\times$ mg protein and less, iNOS 1,2 pmol citrulline/min $\times$ mg protein and cNOS 4,4 pmol citrulline/min $\times$ mg protein and less, Na⁺,K⁺-ATPase 37 nmol Ri/min $\times$ mg protein and less, and also in the seminal plasma – TAC 1760 μ M and less.

Prognostic criteria for the formation of immune-dependent infertility in patients with left-sided varicocele were: IFN- γ blood serum level higher than 12,4 pg/ml, and in seminal plasma – spIL-6 more than 49,5 pg/ml.

Correlation relationships between a wide range of fertility pathogenetic factors in men with varicocele have been studied, namely the results of sonoelastography, biochemical, immunological and sperm indices. In men with left-sided varicocele grade II-III particularly significant ($p < 0,05$) correlation relationships were inherent for the enzymes activity in different tissues, and especially in spermatozoons. The most pronounced were strong correlations among spermatozoons enzymes. The direct correlation between sGSH concentration and Arg activity – 0,96 and the inverse between sMDA concentration and spermatozoons plasma membrane Na⁺,K⁺-ATPase activity – $r = -0,93$, as well as the activity of cNOS with the next enzymes: the direct with sGSH concentration, Arg and Na⁺,K⁺-ATPase activities – 0,94, and the reversed the same density with the concentration of sMDA – $r = -0,94$. Among the sonologic parameters, the strongest positive correlation were observed between VD and VDvm – 0,89 and significantly weaker between left testicle elastogram and DVR – 0,61.

Particularly significant ($p < 0,05$) correlation relationships in varicocele patients were typical for DVR with the enzymes activity. Among them – the inverse correlations with the spermatozoons activities cNOS – $r = -0,96$, Arg – $r = -0,94$, Na⁺,K⁺-ATPase – $r = -0,95$ and Ca²⁺,Mg²⁺-ATPase – $r = -0,91$, sGR – $r = -0,92$ and sGP – $r = -0,91$. In addition, DVR, negatively correlated with sGSH – $r = -0,95$ as well as svGSH – $r = -0,92$, while positive correlation was observed with the concentration of MDA – respectively in the above biological substrates 0,93 and 0,9. DVR had also a negative correlation bond with Qs – $r = -0,88$.

In patients with varicocele, biochemical parameters were most actively correlated with Qs. In the left internal testicular vein serum were found reliable ($p < 0,05$), strong, negative, correlation with svMDA concentration $r = -0,83$, positive with svGT activity – 0,83 and svGSH concentration – 0,82. Somewhat higher correlation coefficient values were recorded by the sperm enzymes activity and mainly with a positive direction, namely: sGSH – 0,87, cNOS – 0,86, Na^+, K^+ -ATPase – 0,85, sGR – 0,84, sGP – 0,83, as well as Arg and $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -ATPase – 0,82. In addition, almost identical, but negative correlation bonds were obtained with – $r = -0,84$ for iNOS activity and sMDA concentration.

The numerous cross-correlation relationships between sperm parameters, pro-/antioxidants, L-arginine/NO, ion-transport and immunological systems evidenced the polyetiological theory of infertility formation in varicocele patients. Prooxidant mechanisms activation and hyperproduction of proinflammatory cytokines in varicocele patients create preconditions for auto-aggression, making threats for the men's fertile potential despite varicocelectomy. This is especially true in a men with deficiency in TAC and activation of the immune system with increased production of proinflammatory cytokines in peripheral blood $\text{IFN-}\gamma > 12,4 \text{ pg/ml}$ and in seminal plasma – $\text{spIFN-}\gamma > 64,1 \text{ pg/ml}$ and $\text{spIL-6} > 49,5 \text{ pg/ml}$, after varicocelectomy.

Key words: varicocele, laparoscopic varicocelectomy, testicular elastography, oxidative stress, immune-dependent infertility, fertile potential prognostic markers.