

Влияние бессимптомных инфекций уrogenитального тракта на показатели эякулята у мужчин с бесплодием и варикоцеле

Л. Ф. Курило¹, Т. М. Сорокина¹, Г. Н. Матющенко¹, В. В. Евдокимов², Е. А. Малоліна^{2,3},
В. П. Ковалык⁴, В. А. Яковлева⁵, М. А. Гомберг⁶, А. А. Кушч²

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»; Россия, 115478, Москва, ул. Москворечье, 1;

²ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России;
Россия, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18;

³ФГБУН «Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова» РАН; Россия, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26;

⁴Клинико-диагностический центр ФГБУЗ «Федеральный клинический центр высоких медицинских технологий» Федерального
медико-биологического агентства России;

Россия, 141435, Московская область, городской округ Химки, микрорайон Новогорск;

⁵ФГБУЗ «Медсанчасть № 170» Федерального медико-биологического агентства России;

Россия, 141070, Московская область, Королев, ул. Ленина, 2;

⁶ФБУЗ «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России;

Россия, 119071, Москва, Ленинский проспект, 17

Контакты: Любовь Федоровна Курило kurilo@med-gen.ru

Варикоцеле — патология, которой страдают около 15 % мужчин. С ним ассоциированы до 30 % всех случаев мужского бесплодия. Роль сопутствующих инфекций уrogenитального тракта (УГТ) при бесплодии в сочетании с варикоцеле недостаточно изучена. Цель работы — оценка влияния бактериально-вирусных инфекций УГТ на показатели эякулята у пациентов с бесплодием и варикоцеле.

Обследованы 49 больных бесплодием и варикоцеле и 26 практически здоровых мужчин, обратившихся для профилактического обследования. При исследовании эякулятов и соскобов из уретры среди 49 пациентов был выявлен высокий уровень инфицированности УГТ бактериальными (30,6 %) и вирусными (14,3 %) патогенами. Количественный анализ вирусной ДНК показал, что концентрация герпес-вирусов в эякуляте была высокой (> 3 lg10/мл). При детальном изучении спермограмм обнаружено, что у пациентов с бесплодием и варикоцеле все основные показатели были снижены по сравнению с аналогичными данными у здоровых мужчин; присутствие инфекционных агентов оказывало дополнительное статистически значимое ухудшение качества эякулята. По данным спермиологического исследования установлено повышенное количество сочетанных форм патозооспермии (астенотератозооспермия, олиготератозооспермия, олигоастенотератозооспермия) у пациентов с бесплодием, варикоцеле и бактериально-вирусной инфекцией УГТ по сравнению с неинфицированными пациентами с бесплодием и варикоцеле.

При мужском бесплодии, ассоциированном с варикоцеле, можно рекомендовать проведение лабораторной диагностики бактериальных и вирусных патогенов, наиболее часто встречающихся в УГТ мужчин даже при отсутствии клинических признаков инфекции. Количественный анализ патогенов в УГТ, выполненный до лечения варикоцеле, позволит определить необходимость этиотерапии скрытой инфекции.

Ключевые слова: мужское бесплодие, варикоцеле, инфекция уrogenитального тракта, показатель спермограммы, форма патозооспермии

DOI: 10.17650/2070-9781-2016-17-2-98-103

Impact of asymptomatic urogenital tract infections on ejaculate parameters in infertile men with varicocele

L. F. Kurilo¹, T. M. Sorokina¹, G. N. Matyushchenko¹, V. V. Evdokimov², E. A. Malolіna^{2,3}, V. P. Kovalyk⁴, V. A. Yakovleva⁵,
M. A. Gombert⁶, A. A. Kushch²

¹Research Center for Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow, 115478, Russia;

²N. F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia; 18 Gamaleya St.,
Moscow, 123098, Russia;

³N. K. Kol'tsov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences; 26 Vavilova St., Moscow, 119334, Russia;

⁴Clinical Diagnostic Center, Federal Clinical Center for High Medical Technologies, Federal Biomedical Agency of Russia; Novogorsk
Microdistrict, Khimki Urban District, Moscow Region, 141435, Russia;

⁵Medical Sanitary Unit One Hundred and Seventy, Federal Biomedical Agency of Russia;
2 Lenina St., Korolev, Moscow Region, 141070, Russia;

⁶Moscow Research and Practical Center for Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Health of Russia; 17 Leninskiy Prospect,
Moscow, 119071, Russia

Varicocele, a pathology developing in 15 % males, is associated with 30 % male infertility cases. The role of urogenital infections coinciding with varicocele in infertile men has not been studied in sufficient detail.

Objective: *to examine the effects of bacterial and viral infections on ejaculate parameters in infertile patients with varicocele.*

The study included 49 patients with infertility and varicocele and 26 healthy males undergoing prophylactic medical examination. High-level infection was recorded after examination of ejaculates and urethral scrapes of 49 patients: bacterial (30.6 %) and viral (14.3 %) pathogens. Quantitative analysis of viral DNA showed high contamination of ejaculates with herpes viruses (> 3 lg10/ml). Detailed analysis of spermatograms demonstrated a decrease in all basic parameters in patients with varicocele and infertility compared with those in healthy subjects. The presence of infectious agents had a statistically significant negative effect on ejaculate parameters. Spermiological examination revealed high level of sperm abnormalities (astenozoospermia, oligoteratozoospermia, and oligoastenoteratozoospermia) in patients with infertility, varicocele and bacterioviral infection of urogenital tract compared with uninfected infertile patients with varicocele.

Laboratory tests for bacterial and viral infections should be recommended in infertility associated with varicocele even in the absence of clinical signs of these infections. Quantitative analysis of urogenital pathogens allows one to determine the necessity of etiotherapy of hidden infection and to monitor the effectiveness of treatment.

Key words: *male infertility, varicocele, urogenital infection, spermogram parameter, pathozoospermia*

Введение

Бесплодие – актуальная проблема биологии и медицины, которая затрагивает от 12 до 20 % семейных пар в мире. Приблизительно в 50 % случаев причиной бесплодия является мужской фактор [1]. Несмотря на многочисленные исследования, этиология мужского бесплодия часто остается неизвестной [2–4]. Варикоцеле – патология, которой страдают около 15 % мужчин [5, 6], и согласно имеющимся данным с ним ассоциированы до 30 % всех случаев мужского бесплодия [7]. В настоящее время для лечения варикоцеле используют несколько различных методов, однако успех достигается далеко не всегда. Проведен метаанализ результатов 36 опубликованных работ, в которых сравнивали уровень спонтанных беременностей, наступивших после лечения варикоцеле, и количество постоперационных осложнений. В зависимости от использованного метода оба показателя статистически значимо различались, но лучшие результаты лечения бесплодия не достигали 50 % [8, 9].

Мы считаем, что одной из возможных причин неудачных исходов лечения бесплодия, сочетанного с варикоцеле, могут быть сопутствующие инфекции уrogenитального тракта (УГТ). Такое предположение основано на результатах, показавших, что присутствие бактерий [10] и вирусов [11, 12] в УГТ мужчин при отсутствии клинически выраженных признаков инфекционного заболевания негативно влияет на показатели спермы и фертильность. Данных в литературе, подтверждающих или опровергающих сделанное предположение, нет.

Цель работы – оценка влияния бактериально-вирусных инфекций УГТ на показатели эякулята у пациентов с варикоцеле и бесплодием.

Материалы и методы

Пациенты. В исследование были включены 75 пациентов, обратившихся для обследования в Медико-генетический научный центр, Клиническую больницу № 84 и Медсанчасть № 170 в период 2013–2015 гг.

В результате клинико-лабораторного анализа у 49 пациентов (средний возраст $30,2 \pm 4,9$ года) было обнаружено первичное бесплодие и варикоцеле. Группу сравнения составили 26 практически здоровых мужчин (средний возраст $31,5 \pm 8,6$ года). У всех пациентов отсутствовали клинические проявления инфекционных заболеваний.

У мужчин с варикоцеле бесплодие устанавливали, если после 12 мес регулярной половой жизни без контрацепции у партнерши не наступала беременность.

Все пациенты дали информированное добровольное письменное согласие на выполнение обследования. Процедуры исследования, которые были одобрены комитетом по биомедицинской этике в Федеральном научно-исследовательском центре эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией.

Клинический материал. Образцы эякулята от 75 обследованных мужчин были получены путем мастурбации после 3-дневного полового воздержания и разделены на 2 части: 1-ю использовали для спермиологического анализа, 2-ю – для экстракции ДНК из цельных эякулятов с последующим выявлением вирусной ДНК. Кроме этого, в уrogenитальных материалах (соскобы из уретры) определяли наиболее распространенные бактериальные патогены.

Спермиологическое обследование проводили согласно руководству Всемирной организации здравоохранения [13]. Основные показатели спермограммы (концентрация и степень подвижности сперматозоидов, количество морфологически нормальных форм сперматозоидов) были изучены у 38 пациентов с бесплодием и варикоцеле и у 26 практически здоровых мужчин.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР) в клиническом материале определяли методом ПЦР с помощью реагентов фирмы Интерлабсервис (Москва, Россия): комплекта реагентов для экстракции ДНК из клинического материала «АмплиСенс

ДНК-сорб-В» и набора реагентов для выявления ДНК ВПЧ ВКР (генотипов 16, 31, 33, 35, 52, 58, 18, 39, 45, 59, 51 и 56) «АмплиСенс ВПЧ ВКР скрин-FL». Амплификацию проводили с помощью Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия).

Для количественного определения ДНК вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ), цитомегаловируса (ЦМВ) и вируса герпеса человека 6-го типа (ВГЧ-6) применяли набор реагентов для ПЦР в режиме реального времени «АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL». β -глобиновый ген использовали в качестве эндогенного внутреннего контроля.

Статистический анализ. Статистическую обработку результатов выполняли с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 и Biostat. Статистические различия анализировали, применяя критерии Стьюдента и Манна–Уитни. Различия показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В образцах эякулята, полученных от практически здоровых мужчин, маркеры инфекционных агентов не обнаружены. Данные о частоте встречаемости возбудителей изученных бактериальных и вирусных инфекций у 49 пациентов с бесплодием и варикоцеле показали, что у большинства (55,1 %) больных бактерии и вирусы в урогенитальных материалах не обнаружены. Бактериальные маркеры выявлены у 15 (30,6 %) пациентов. ДНК ВПЧ ВКР или герпес-вирусов человека была обнаружена в эякуляте у 7 (14,3 %) из 49 обследованных пациентов.

Наиболее часто встречающиеся бактериальные и вирусные патогены были идентифицированы. Результаты микробиологического и вирусологического исследований представлены в табл. 1.

Среди бактерий чаще выявляли возбудителей хламидийной инфекции ($p < 0,05$). Возбудители вирусных инфекций встречались относительно редко и приблизительно с одинаковой частотой.

При количественном анализе ДНК 3 герпес-вирусов человека обнаружена значительная вариабельность их концентраций в эякулятах: минимальное значение составило 450 копий ($2,65 \lg 10/\text{мл}$), максимальное – 11 750 копий ($4,07 \lg 10/\text{мл}$). Медиана по всем положительным образцам оказалась относительно высокой – 5355 копий ($3,73 \lg 10/\text{мл}$), при этом концентрация ДНК ЦМВ и ВГЧ-6 была выше, чем концентрация ДНК ВЭБ. Среди герпес-вирусов ЦМВ встречался в большей концентрации, чем ВГЧ-6 и ВЭБ. Результаты количественного анализа ДНК ВПЧ ВКР показали, что медианные значения были низкими и не достигали клинически значимой вирусной нагрузки, за которую принимали $3 \lg 10/\text{мл}$.

В целях спермиологического изучения и на основании полученных данных пациенты с бесплодием

и варикоцеле были разделены на 3 группы: 1-ю составили 18 мужчин без клинических и лабораторных признаков воспалительных заболеваний УГТ, 2-ю – 14 пациентов, у которых в соскобе из уретры были обнаружены представители бактериальной флоры, но отсутствовали клинические признаки инфекционных заболеваний, 3-ю – 6 больных без клинических признаков воспалительных заболеваний УГТ, но в сперме которых была выявлена ДНК вирусов. В 4-ю группу (сравнения) вошли 26 практически здоровых мужчин.

Таблица 1. Частота встречаемости патогенов в урогенитальных материалах пациентов с бесплодием и варикоцеле

Патоген	Число пациентов, n (%)	
	с варикоцеле и бактериальной инфекцией	с варикоцеле и вирусной инфекцией
ЦМВ	–	2 (28,6)
ВГЧ-6	–	1 (14,3)
ВЭБ	–	1 (14,3)
ВПЧ ВКР	–	3 (42,8)
<i>Chlamydia trachomatis</i>	10 (66,6)	–
<i>Mycoplasma genitalium</i>	3 (20,0)	–
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 (6,7)	–
<i>Treponema pallidum</i>	1 (6,7)	–
Всего	15	7

Был проведен сравнительный анализ основных показателей качества эякулята мужчин всех 4 групп (табл. 2).

Статистический анализ показал, что средние значения концентрации, подвижности и количества морфологически нормальных форм сперматозоидов в эякулятах мужчин 4-й группы были значительно выше, чем в других группах (для каждого показателя спермограммы $p < 0,05$). Показатели качества эякулята пациентов 1-й и 2-й групп статистически значимо не отличались ($p > 0,05$). При этом количество морфологически нормальных форм сперматозоидов во 2-й группе было ниже по сравнению с 1-й ($p < 0,05$). Наибольшие изменения были обнаружены при сравнении основных показателей спермограммы у пациентов 3-й группы. Так, концентрация сперматозоидов оказалась в 1,8 раза ниже, чем в 1-й и 2-й группах, а количество морфологически нормальных клеток – в 2,2 раза меньше, чем в 1-й группе; различия статистически значимы ($p < 0,05$).

Сравнительный анализ заключений, полученных на основании изучения основных показателей эякулята, представлен в табл. 3.

Таблица 2. Основные показатели качества эякулята у обследованных пациентов

Показатель	Значение показателя			
	1-я группа (n = 18)	2-я группа (n = 14)	3-я группа (n = 6)	4-я группа (n = 26)
Концентрация сперматозоидов, 10 ⁶ /мл	63,7 ± 32,3	62,7 ± 32,4	35,4 ± 15,5 (p = 0,0487)	103,6 ± 55,2
Подвижность сперматозоидов (a + b), %	32,4 ± 15,0	31,4 ± 13,6	26,8 ± 11,1	51,4 ± 17,6
Морфологически нормальные формы сперматозоидов, %	21,3 ± 9,0	12,7 ± 7,9 (p = 0,049)	9,5 ± 6,4 (p = 0,007)	47,2 ± 19,3

Примечание. Жирным шрифтом выделены значения, статистически значимо отличающиеся от соответствующих значений в 1-й группе.

Таблица 3. Сравнительный анализ заключений по показателям спермограммы у пациентов с бесплодием и варикоцеле

Состояние эякулята	Число пациентов, n (%)		
	1-я группа (n = 18)	2-я группа (n = 14)	3-я группа (n = 6)
Азооспермия	1 (5,5)	—	—
Олигозооспермия	1 (5,5)	—	—
Нормозооспермия	6 (33,3)	1 (7,1)	—
Астенозооспермия	3 (16,7)	2 (14,3)	—
Тератозооспермия	5 (27,8)	3 (21,4)	2 (33,3)
Астенотератозооспермия	1 (5,5)	6 (42,9)	2 (33,3)
Олиготератозооспермия	1 (5,5)	—	2 (33,3)
Олигоастенотератозооспермия	—	2 (14,3)	—

Полученные данные показали, что у пациентов 1-й группы в большинстве случаев (33,3 %) установлена нормозооспермия, тогда как у пациентов 2-й группы — астенотератозооспермия. При вирусном инфицировании эякулята с одинаковой частотой встречались такие формы патологии как тератозооспермия, астенотератозооспермия и олиготератозооспермия.

В связи с большой долей пациентов, у которых было обнаружено снижение количества морфологически нормальных форм сперматозоидов, был проведен более детальный микроскопический анализ. Идентифицировали 14 нарушений в структуре сперматозоидов, среди которых: атипия жгутика, аморфные головки, удлиненные головки, микроголовки, цитоплазматическая капля на головке, гетероаксиальность, круглые головки, капля на шейке, нарушения в акросоме и двухголовые сперматозоиды. Обнаружены также сочетанные нарушения: аморфные головки с атипией жгутика, капля на шейке с атипией жгутика, капля на шейке с нарушениями в акросоме; нарушения в акросоме с атипией жгутика.

Для каждого пациента подсчитывали среднее число нарушений структуры сперматозоидов, а также количество клеток с нестандартной морфологией. Оказа-

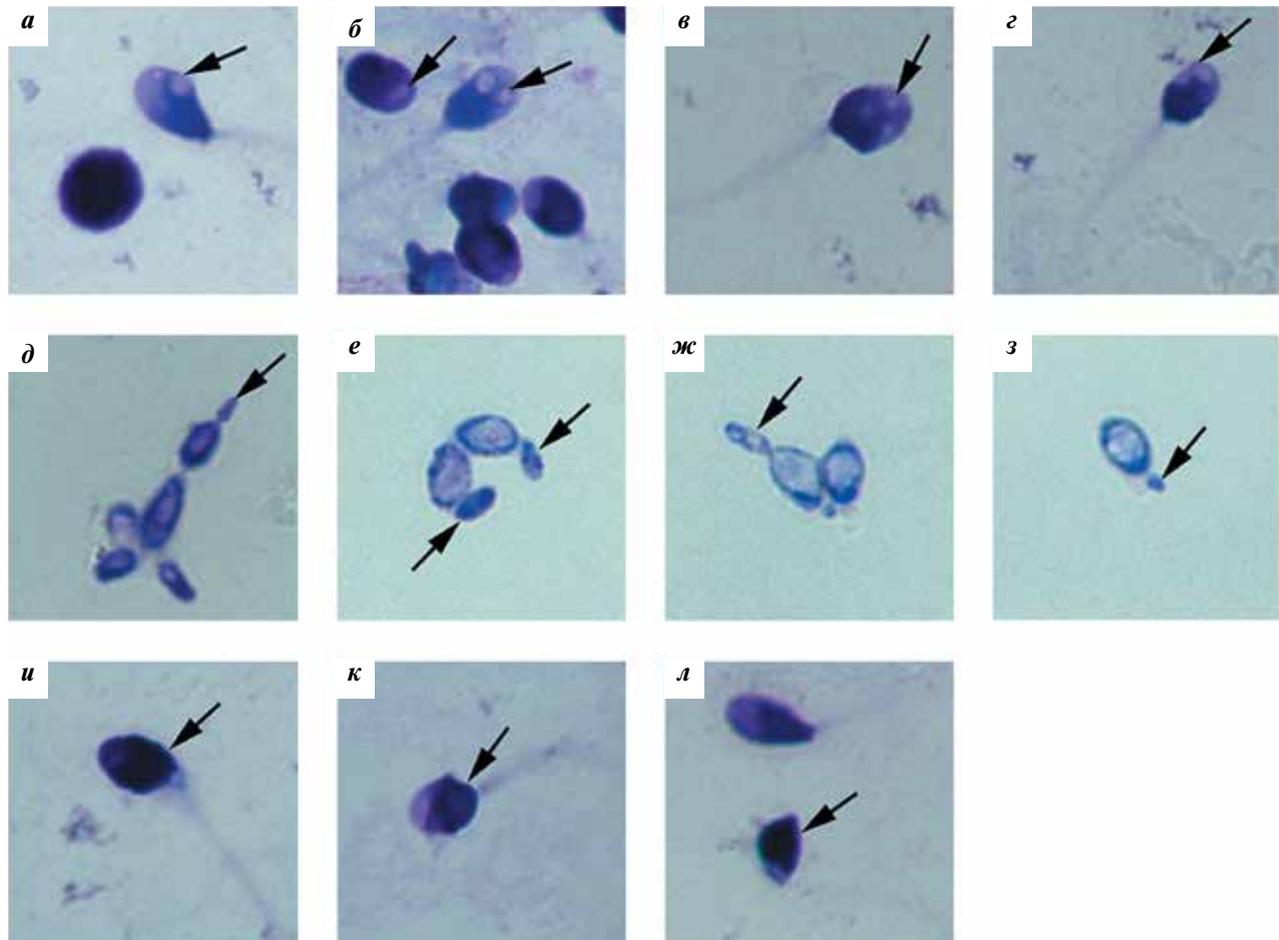
лось, что наибольшие нарушения произошли в структуре головки сперматозоидов по сравнению с шейкой и жгутиком. При этом среднее количество клеток с нарушениями морфологии головки сперматозоида у пациентов 2-й и 3-й групп было значительно больше (77,8 и 66,7 % соответственно), чем у мужчин 1-й группы (29,8 %); различия статистически значимы (p < 0,05).

На рисунке представлены фотографии сперматозоидов с нарушениями структуры у пациентов с бесплодием и варикоцеле. Показаны присутствие вакуолей в клетках, атипичное строение головки и шейки, нарушения в акросоме и шейке, клетки в незавершенной ана-телофазе I и II мейоза, аномалии конденсации хроматина. Количество различных морфологических нарушений было высоким, не различалось между группами и составляло в среднем на 1 пациента 7,9 (из 14 определяемых нарушений) в 1-й группе, 9,5 — во 2-й и 8,6 — в 3-й. Значительно чаще других отмечены такие нарушения, как аморфные головки, нарушения в акросоме и нарушения в акросоме с атипией жгутика. Редко встречались сперматозоиды с удлиненными или круглыми головками, а также двухголовые сперматозоиды.

Обсуждение

Заболеваемость варикоцеле в общей популяции составляет 10–20 %. Среди мужчин с варикоцеле 35–40 % страдают первичным и до 80 % вторичным бесплодием [8, 14]. Важными критериями в диагностике мужского бесплодия являются такие показатели спермограммы, как концентрация сперматозоидов, их общая подвижность и количество морфологически нормальных форм. Опубликованные данные свидетельствуют о негативном влиянии варикоцеле на качество спермы [15–18].

По данным эпидемиологических исследований все больше мужчин с бесплодием страдают воспалительными заболеваниями УГТ, которые часто протекают бессимптомно [19]. В настоящей работе было отмечено, что у пациентов с бесплодием и варикоцеле, в УГТ которых выявлены бактерии и вирусы, показатели спермы статистически значимо снижены по сравнению с больными с аналогичным диагнозом, но без инфекционных агентов. Сравнительный анализ основных



Нарушения морфологии сперматозоидов у пациентов с бесплодием и варикоцеле, в эякулятах которых обнаружены инфекционные патогены (стрелки): а–в – присутствие вакуолей; г – нарушение формирования головки в целом; д – нарушение формирования шейки; е – нарушение ана-телофазы I и II мейоза, формирование 4 ядер в одной клетке; ж, з – нарушение формирования акросомы и нарушение формирования шейки сперматозоида; и–л – нарушение формирования головки (аномалии конденсации хроматина, формирования акросомы и шейки)

показателей спермограмм при варикоцеле без инфекций и с бактериальной генитальной инфекцией без варикоцеле показал, что оба состояния ухудшают качество спермы [1]. Установлено, что присутствие бактерий в сперме при бессимптомной инфекции оказывает негативное действие на оплодотворение как путем прямого действия на гаметы, так и опосредованно, через иммунные механизмы [19].

Е. Vicari и соавт. при обследовании пациентов с бесплодием и варикоцеле, инфицированных вирусами гепатита В и С, установили, что присутствие ДНК вируса гепатита В или РНК вируса гепатита С значительно ухудшало основные показатели спермограмм [20].

Проведенный нами анализ морфологических нарушений в структуре сперматозоидов (см. рисунок) позволяет судить о клеточных и молекулярных механизмах снижения фертильности при варикоцеле, ассоциированном с инфекциями УГТ. Так, нарушение прохождения стадий мейоза указывает на блок сперматогенеза. Обнаружение внутриклеточных вакуолей, атипичной структуры головки и дефектной акросомы, а также гипер-

концентрация хроматина у обследованных пациентов свидетельствуют о снижении способности сперматозоидов к оплодотворению и дальнейшему нормальному развитию зиготы. Нарушения формирования шейки, в том числе цитоплазматическая капля на шейке, указывают на незрелые формы в эякуляте, а атипичное строение жгутика – на снижение подвижности сперматозоидов.

Таким образом, можно отметить высокий уровень инфицированности УГТ среди 49 обследованных пациентов с бесплодием и варикоцеле бактериальными (30,6 %) и вирусными (14,3 %) патогенами. У большинства инфицированных пациентов концентрация герпес-вирусов была высокой: среднее значение превышало концентрацию $3 \lg 10/\text{мл}$ в эякуляте. Папиллома-вирусы встречались в относительно низкой концентрации. Статистический анализ показал, что основные параметры спермы у больных бесплодием и варикоцеле были снижены по сравнению с аналогичными показателями у здоровых мужчин. При этом присутствие инфекционных агентов оказывало дополнительное статистически значимое ухудшение качества спермы.

Анализ спермограмм выявил повышенное количество сочетанных форм патозооспермии (астенотератозооспермия, олиготератозооспермия, олигоастенотератозооспермия) у мужчин с бесплодием, варикоцеле и бактериально-вирусной инфекцией УГТ по сравнению с неинфицированными пациентами с варикоцеле и бесплодием.

Характерным свойством возбудителей бессимптомных инфекций является их способность к реактивации. При лечении варикоцеле используют ряд методов, включающих оперативные воздействия, которые могут вызвать реактивацию латентных патогенов и усиление персистентных инфекций с переходом в клинически выраженные формы, подобно тому как это происходит при пересадках органов и тканей.

Заключение

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы.

1. При мужском бесплодии, ассоциированном с варикоцеле, можно рекомендовать проведение лабораторной диагностики бактериальных и вирусных патогенов, наиболее часто встречающихся в УГТ мужчин, даже при отсутствии клинических признаков инфекции.
2. Количественный анализ патогенов в УГТ, проведенный до лечения варикоцеле, позволит определить необходимость этиотропной терапии скрытой инфекции.
3. Для оценки влияния инфекционной патологии на эффективность лечения бесплодия при варикоцеле требуются дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Pajovic B., Dimitrovski A., Radojevic N., Vukovic M. Comparison of sperm parameters in patients with infertility induced by genital infection versus varicocele. *Balkan Med J* 2015;32(3):255–9.
2. Timpano M., Fontana D., Rolle L. et al. Sperm collection for medically assisted procreation in azoospermic patients. *Urologia* 2014;81(Suppl 23):27–31.
3. Dada R., Kumar M., Jesudasan R. et al. Epigenetics and its role in male infertility. *J Assist Reprod Genet* 2012;29(3):213–23.
4. Poongothai J., Gopenath T.S., Manonayaki S. Genetics of human male infertility. *Singapore Med J* 2009;50(4):336–7.
5. Dubin L., Amelar R.D. Etiologic factors in 1294 consecutive cases of male infertility. *Fertil Steril* 1971;22(8):469–74.
6. Schlesinger M.H., Wilets I.F., Nagler H.M. Treatment outcome after varicocelectomy. A critical analysis. *Urol Clin North Am* 1994;21(3):517–29.
7. Nagler H.M., Luntz R.K., Martinis F.G. *Varicocele*. By eds.: L.I. Lipshultz, S.S. Howards. In book: *Infertility in the male*. 3rd ed. St. Louis, Missouri: Mosby-Year Book, 1997. Pp. 336–359.
8. Cayan S., Shavakhabov S., Kadioglu A. Treatment of palpable varicocele in infertile men: A meta-analysis to define the best technique. *J Androl* 2009;30(1):33–40.
9. Cantoro U., Polito M., Muzzonigro G. Reassessing the role of subclinical varicocele in infertile men with impaired semen quality: a prospective study. *Urology* 2015;85(4):826–30.
10. Fraczek M., Kurpisz M. Mechanisms of the harmful effects of bacterial semen infection on ejaculated human spermatozoa: potential inflammatory markers in semen. *Folia Histochem Cytobiol* 2015;53(3):201–17.
11. Kapranos N., Petrakou E., Anastasiadou C., Kotronias D. Detection of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and Epstein–Barr virus in the semen of men attending an infertility clinic. *Fertil Steril* 2003;79(3):1566–70.
12. Ochsendorf F.R. Sexually transmitted infections: impact on male fertility. *Andrologia* 2008;40(2):72–5.
13. World Health Organization. WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization. 2010.
14. Kamal K.M., Javeri K., Zini A. Microsurgical varicocelectomy in the era of assisted reproductive technology: influence of initial semen quality on pregnancy rates. *Fertil Steril* 2001;75(5):1013–6.
15. Baazeem A., Belzile E., Ciampi A. et al. Varicocele and male factor infertility treatment: a new meta-analysis and review of the role of varicocele repair. *Eur Urol* 2011;60(4):796–808.
16. Pajovic B., Radojevic N., Vukovic M., Stjepcevic A. Semen analysis before and after antibiotic treatment of asymptomatic Chlamydia- and Ureaplasma-related pyospermia. *Andrologia* 2013;45(4):266–71.
17. Ma H.G., Zhao W.J., Lu H.K. Semen quality and sperm ultrastructure in infertile men with varicocele. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2013;19(8):704–9.
18. Hart R.J., Doherty D.A., McLachlan R.I. et al. Testicular function in a birth cohort of young men. *Hum Reprod* 2015;30(12):2713–24.
19. Fraczek M., Kurpisz M. Inflammatory mediators exert toxic effects of oxidative stress on human spermatozoa. *J Androl* 2007;28(2):325–33.
20. Vicari E., Arcoria D., Di Mauro C. et al. Sperm output in patients with primary infertility and hepatitis B or C virus; negative influence of HBV infection during concomitant varicocele. *Minerva Med* 2006;97(1):65–77.