

СТАТЬЯ. Опубликовано в журнале «Здравоохранение». -2010.-№8.-С.63-66.

Е.И.Юшко, С.В.Жуковская, Т.В.Игнатъева, А.И.Линник

## **ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ БИОПСИИ И КРИОКОНСЕРВАЦИИ БИОПТАТА В ПРОГРАММЕ ЛЕЧЕНИЯ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ**

Кафедра урологии (зав. кафедрой – профессор Строчкин А.В.)

Белорусского Государственного медицинского университета,

МЧУП Центр Репродуктивной Медицины (директор – Жуковская С.В.)

### **ВВЕДЕНИЕ**

Мужское бесплодие – болезнь, обусловленная нарушением генеративной и копулятивной функции и классифицируемая в «Международной классификации болезней» (МКБ–10, Женева 1995) как инфертильное состояние в качестве самостоятельной нозологической формы [1].

За последние 20-30 лет нарушение репродуктивной функции мужчин, состоящих в бесплодном браке, приобрело особую медицинскую и социальную значимость. Демографические показатели Беларуси и большинства стран мира свидетельствуют об увеличении частоты встречаемости мужского бесплодия, что связано с ростом инфекционно-воспалительных заболеваний органов мочеполовой системы, увеличением числа аномалий развития половых органов, влиянием вредных факторов окружающей среды, урбанизацией, широким и бесконтрольным применением лекарственных средств, аллергизацией населения и другими факторами [2].

Публикаций о распространенности бесплодия немного, лишь некоторые из них заслуживают полного доверия. Обычно сообщаются данные ВОЗ, согласно которым примерная распространенность бесплодия (первичного и вторичного) составляет 15% всех супружеских пар репродуктивного возраста, а на долю мужского фактора приходится 52% [3,4]. Из этого следует простой вывод: более 7% мужчин, состоящих в браке, в течение жизни сталкиваются с проблемами нарушения фертильности и, следовательно, распространенность бесплодия в мужской популяции явно превосходит распространенность сахарного диабета (типов I и II), которую считают почти эндемичной [3].

Одной из самых сложных для лечения форм мужского бесплодия следует считать азоосперию (в эякуляте отсутствуют сперматозоиды), частота которой в общей структуре причин мужского бесплодия за последние годы значительно возросла. По данным литературы [5] в 1998 г. азооспермия занимала 5% в структуре мужского бесплодия, но уже в 2005 г. результаты исследований свидетельствовали о том, что этот показатель значительно возрос – до 10-15% [6].

В настоящее время для разделения мужчин с азооспермией на однородные группы предложено несколько классификаций. Наиболее полной является классификация, основанная на уровне возникновения или расположения патологического процесса, – причины разделены на претестикулярные, тестикулярные и посттестикулярные [2,7].

Претестикулярная патология – группа причин, приводящих к секреторной азооспермии. Претестикулярная патология может быть врождённая и приобретённая. Причины врождённой: частичный или полный синдром Кальмана, ассоциированный с агенезией первой пары черепных нервов и аносмией. Уровни ФСГ/ЛГ снижены, яички могут быть уменьшены либо нормальных размеров. Причинами приобретенной претестикулярной патологии могут стать гипофизарные опухоли, краниофарингиома, менингит, саркоидоз, гипоплазия надпочечников (синдром Кушинга), гемохроматоз.

Тестикулярная патология – группа, объединяющая наиболее частые причины секреторной азооспермии. На морфологическом уровне патологические процессы представлены дегенерацией, дезорганизацией, гиалинозом и атрофией канальцев. Врождённая тестикулярная патология: синдром Кляйнфельтера, микроделеция длинного плеча У-хромосомы, аутосомные заболевания, крипторхизм, анорхия. Среди причин приобретённой – инфекционно-воспалительные заболевания гениталий, эндокринные нарушения (гипер- и гипогонадотропный гипогонадизм, гиперпролактинемия, тестостерондефицитные состояния), последствия несвоевременно пролеченного варикоцеле (в условиях венозного застоя снижается перфузия ткани яичка, возникает ишемия и гипоксия, что приводит к нарушению функций клеток Сертоли и атрофии семенных канальцев, а также повреждению гематотестикулярного барьера, что создаёт условия для развития аутоиммунного орхита) [2], токсическое воздействие (ионизирующая радиация, лучевая, гормоно- и химиотерапия, неадекватный или длительный прием транквилизаторов и антигипертензивных средств, сульфаниламидов, производных нитрофурана).

Посттестикулярная патология (в основе лежат причины, вызывающие обтурационную азооспермию): врождённая аплазия семявыносящего протока (CAVD), кистозный фиброз, синдром Young, синдром Zinner; приобретённая непроходимость протоков в результате обструкции, возникшей вследствие воспалительного процесса (туберкулёз, гонококковая и хламидийная инфекции, оспа, филяриоз), кисты и опухоли придатков яичка, ятрогенные повреждения семявыносящего протока или извитого протока придатка в процессе проведения хирургических манипуляций на яичке, придатке, семенном канатике, нижней трети мочеточника и т.д.

Однако традиционно большинство исследователей и практических врачей используют классификацию с разделением азооспермии на секреторную (необтурационную), экскреторную (обтурационную) и смешанную [2,8]. Она удобна для практического использования и может применяться на любом этапе обследования и лечения пациентов с данной патоспермией.

Одним из высокоэффективных методов диагностики и возможного лечения азооспермии является тестикулярная биопсия (ТБ), впервые предложенная Charny (1940) и Hotchkiss (1942). Данное хирургическое пособие является единственным объективным способом проведения дифференциальной диагностики между обтурационными и необтурационными формами азооспермии, манипуляция может применяться как с диагностической, так и с лечебной целью в случае получения сперматозоидов достаточного качества [8,9].

За последнее десятилетие в развитии репродуктивной медицины во всем мире отмечается тенденция к криоконсервации яйцеклеток, сперматозоидов, эмбрионов и бластоцист. Метод криоконсервации позволяет сохранять качество биологического материала на протяжении нескольких лет, что достигается благодаря тщательной разработке и изучению методик замораживания и оттаивания. Такой подход обеспечивает большую управляемость и эффективность лечения в преодолении мужского и женского бесплодия. В настоящее время в

Беларуси ТБ и криоконсервация биоптата с последующим использованием его во вспомогательных репродуктивных технологиях (ВРТ) проводится только в Центре Репродуктивной Медицины.

Цель работы. Оценка эффективности метода пункционной (аспирационной) биопсии яичка и его придатка и последующего использования сперматозоидов, полученных из биоптата для ВРТ.

Задачи исследования:

1. определить частоту азооспермии в структуре мужского бесплодия по данным Центра Репродуктивной Медицины;
2. установить причины азооспермии в исследуемой группе;
3. оценить результаты ВРТ с применением ТБ у пациентов с азооспермией.

Материал и методы. Работа выполнена на основании данных, предоставленных Центром Репродуктивной Медицины, который в полном объеме занимается диагностикой и лечением женского и мужского бесплодия.

В период с 2003 по 2010 гг. обратилось 2277 пациентов с мужским бесплодием, из них азооспермия наблюдалась в 233 случаях, что составило 10,2%. С учетом данных проведенных исследований и пожеланий семьи, лечебно-диагностическая ТБ была проведена 121 пациенту, которые и составили исследуемую группу.

Возрастная структура: до 25 лет – 5 человек (4.1%), 25-35 лет – 109 человек (90.1%), 35-42 года – 7 человек (5.8%). Длительность лечения бесплодия в других медицинских учреждениях до обращения в ЦРМ: до 5 лет – 21 человек (17.4%), 5-10 лет – 88 человек (72.7%), >10 лет – 12 человек (9.9%). Эти данные свидетельствуют о недостаточной информированности врачей об истинных причинах азооспермии и о временных пределах консервативного лечения данной патоспермии.

У 2 пациентов с обтурационной азооспермией, возникшей после вазэктомии в первом браке, проведенной с целью стерилизации, были дети.

Всем пациентам из исследуемой и контрольной групп проведено общее медицинское обследование, исследование мочеполовой системы, проводились следующие лабораторно-диагностические методы: спермограмма, гормональный скрининг (ФСГ/ЛГ, пролактин, эстрадиол, тестостерон, тиреоидные гормоны, антитела к пероксидазе тиреоцитов и тиреоглобулину), обследование на ИППП, серологическая диагностика инфекций (ВИЧ, сифилис, гепатит В и С), ультразвуковое исследование органов мошонки, предстательной железы, семенных пузырьков, медико-генетическое исследование (определение кариотипа).

Для достижения наилучшего результата, обусловленного оплодотворяющей способностью полученных при ТБ сперматозоидов, проводилась общая и специальная подготовка пациентов: санация очагов инфекции, коррекция гормональных нарушений, стимуляция сперматогенеза, витаминотерапия, диетотерапия.

В качестве основного и завершающего этапа диагностических и лечебных мероприятий всем пациентам проведена ТБ: у 100 человек – вакуумная аспирация биоптата непосредственно

из ткани яичка (международная аббревиатура – TESA), у 21 человека – аспирация биоптата из придатка яичка (международная аббревиатура – PESA).

ТБ проводилась под внутривенным обезболиванием с использованием пропофола. Для аспирации использовалась игла типа «butterfly», проколы осуществлялись в верхней, средней и нижней трети яичка (множественная биопсия при наличии фокальных очагов сперматогенеза). Биоптат исследовался с использованием микроскопов Nikon TE-2000S (окуляр 10х/20, объектив Achromat C 40х Хоффман МК) для фазово-контрастной микроскопии и Olympus IX51 (окуляр 10х/22, объектив Achromat C 40х) для проведения инвертированной люминесцентной микроскопии (оба микроскопа - Япония).

При криоконсервации биоптата использовались криопротекторы производства Medicult (Дания). По данным литературы [10,11] с этой целью чаще всего используется желточный буфер либо соевый лецитин; данные вещества не имеют значительных отличий по влиянию на подвижность и морфологические особенности сперматозоидов, на их способность связываться с гиалуроновой кислотой *in vitro* и на целостность ДНК после размораживания. Существует два варианта криоконсервации: метод медленной заморозки и более новый – витрификация, т.е. мгновенная заморозка, в результате которой достигается значительно более высокая выживаемость и подвижность сперматозоидов после размораживания в необходимые для последующего ВРТ сроки [12].

По мере необходимости биоптат подвергался размораживанию и использовался для проведения интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в яйцеклетку (международная аббревиатура - ICSI). Сперматозоиды обрабатывались средой Medicult (Дания) и помещались в инкубатор для культивации. Фертилизация осуществлялась с использованием метода ICSI при использовании манипуляционной системы Narishige (Япония).

Результаты и обсуждение. Частота азооспермии в структуре мужского бесплодия по данным Центра Репродуктивной Медицины составила 10.2% (233 случая на 2277 пациентов, обратившихся с мужским бесплодием). Полученные данные свидетельствуют о достаточно высокой актуальности данной проблемы в Республике Беларусь. На основании результатов биопсий и данных ранее проведенных исследований, нами была определена итоговая структура форм азооспермии: обтурационная – 55%, необтурационная – 45%. Установлены причины обтурационной (эскреторной) азооспермии: инфекционно-воспалительная – 50.7%, послеоперационная – 28.3%, посттравматическая – 10.4%, врождённые аномалии семявыносящих протоков – 6%, кисты придатка яичка – 4.6%.

Причины необтурационной (секреторной) азооспермии: вторичный гипергонадотропный гипогонадизм – 35.2%, последствия несвоевременно пролеченного варикоцеле – 25.9%, первичный гипогонадизм – 20.4%, хромосомные транслокации и делеции – 13%, синдром Клайнфельтера (мозаицизм) – 5.5%.

При наличии смешанной формы азооспермии были тщательно проанализированы причины, вносящие наиболее значимый вклад в развитие данной патоспермии, в результате чего такие пациенты были включены либо в группу секреторной, либо в группу эскреторной азооспермии.

У пациентов с азооспермией ВРТ возможны только с использованием метода ICSI [13]. Для этого могут использоваться как сперматозоиды, полученные в процессе биопсии яичка и не

подвергавшиеся криоконсервации, так и сперматозоиды, полученные из биоптата, подвергшегося криоконсервации. При проведении различных вариантов биопсии 121 пациенту, в 112 случаях получены сперматозоиды, пригодные для ВРТ. В 108 случаях из 112 проводилась криоконсервация полученного путём биопсии материала с последующим размораживанием биоптата и экстракцией сперматозоидов, в 4 случаях фертилизация была проведена сперматозоидами из биоптата без криоконсервации.

Проведено 96 циклов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) с использованием методики ICSI. Из них в 92 случаях использовались сперматозоиды, полученные из биоптата, подвергшегося криоконсервации. В результате 96 процедур ЭКО наступило 42 беременности (43,75%), из них 38 – после использования ранее криоконсервированного материала, а в 4 случаях биоптат не подвергался криоконсервации. 29 беременностей закончились родами, ещё 5 продолжают развиваться на момент подачи статьи в печать. По нашим данным репродуктивные потери составили 8 случаев из 42 начавшихся беременностей (19%): 7 беременностей прекратили развитие в первом триместре (из них – 1 эктопическая), одна неразвивающаяся беременность диагностирована и прервана во втором триместре.

На нашем материале изучено влияние длительности бесплодия на частоту репродуктивных потерь. Установлено, что при длительности бесплодия до 5 лет репродуктивные потери составили 9%, от 5 до 10 лет – 22%; при длительности бесплодия более 10 лет не наступило ни одной беременности. Полученные данные позволяют сделать следующий вывод: эффективность ВРТ напрямую зависит от своевременности обращения пациентов за медицинской помощью. Это со всей очевидностью подчеркивает практическую целесообразность раннего начала комплексного обследования и лечения после установления диагноза «бесплодие».

Многолетний опыт работы Центра Репродуктивной Медицины показал, что для успешного лечения бесплодия в рамках программы ЭКО необходимо тщательное обследование обоих супругов. Сегодня андрологическое и урологическое обследование мужчин является обязательным условием начального этапа идентификации причин бесплодия супружеской пары [14].

Проведенное исследование является доказательством того, что ТБ – ценный диагностический и у части пациентов лечебный метод в преодолении мужского бесплодия, вызванного азооспермией, являющийся перспективным направлением в развитии ВРТ.

#### ВЫВОДЫ:

1. Частота азооспермии в структуре мужского бесплодия по данным Центра Репродуктивной Медицины составила 10,2%.
2. Определена структура форм азооспермии: в исследуемой группе (121 пациент) – 55% обтурационная форма, 45% – необтурационная.
3. Из 96 проведенных циклов ТБ с последующей ICSI беременность наступила в 42 случаях (43.75%). Из них 29 закончились родами, в настоящее время продолжает развиваться ещё 5 беременностей.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем: 10 пересмотр / ВОЗ. – М. : Медицина, 1995. –Т. 1, ч. 2. – 633 с.
2. Сухих Г. Т., Тер-Аванесов Г. В., Назаренко Т. А. и др. Мужское бесплодие: этиопатогенез, диагностика и лечение. – М., 2007. – 104 с.
3. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы : пер. с англ. / под ред. Э. Нишлага, Г. М. Бере. – М. : МИА, 2005. – 554 с.
4. Корякин М. В., Акопян А. С. Анализ причин мужского бесплодия // Пробл. репродукции. – 2000. – № 5. – С. 68–74.
5. Irvine D. S. Epidemiology and etiology of male infertility // Hum. Reprod. – 1998. –Vol. 13, suppl. 1. – P. 33–44.
6. Hernandez U. L., Cervera-Aguilar R. Frequency and etiology of azoospermia in the study of infertile couples // Gynecol. Obstet. – 2005. – Vol. 69. – P. 322–326.
7. Elder K., Elliott Th. The use of testicular and epididymal sperm in IVF. – Great Britain, 1998. – P. 93–99.
8. Schlegel P. N. Causes of azoospermia and their management // Reprod. Fertil. Dev. – 2004. – Vol. 16, № 5. – P. 561–572.
9. Schoor R. A., Elhanbly S., Niederberger C.S., Ross L. S. The role of testicular biopsy in the modern management of male infertility // J. Urol. – 2002. – Vol. 167, № 1. – P. 197–200.
10. Reed M. L., Fzeh P. C., Hamic A. et al. Soy lecithin replaces egg yolk for cryopreservation of human sperm without adversely affecting postthaw motility, morphology, sperm DNA integrity, or sperm binding to hyaluronate // Fertil. Steril. 2009. – Vol. 92, № 5. – P. 1787–1790.
11. Wolfw J., Bryant G. Cryobiology and anhydrobiology of cells. – Sydney, 2004.
12. Vutyavanich T., Piromlertamorn W., Nunta S. Rapid freezing versus slow programmable freezing of human spermatozoa // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. 93, № 6. – P. 1921–1928.
13. Deuroey P., Nagy Z., Tournaye H. et al. Outcome of intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa in obstructive and non- obstructive azoospermia // Hum. Reprod. – 1996. – Vol. 11, № 5. – P. 930–937.
14. Кулаков В. И., Леонов Б. В., Кузмичев Л. Н. Лечение женского и мужского бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии. – М.: МИА, 2005. – 592 с.