

**Опубликовано: МАТЕРИАЛЫ XV МЕЖДУНАРОДНОЙ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «СОВРЕМЕННЫЕ  
ПРОБЛЕМЫ ГУМАНИТАРНЫХ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК»**

25–26 июня 2013 г.

Москва 2013

**Машкин А.И.1, Филимоненкова В.Ю.2, Юшко Е.И.3 ©**

1,2Лечебный факультет БГМУ; 3Научный руководитель, канд. мед. наук, доцент кафедры Урологии, Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

**РОЛЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ AZF ФАКТОРА В АЛГОРИТМЕ КОМПЛЕКСНОГО  
ОБСЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ ФОРМ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ**

В ряде случаев бесплодие обусловлено азооспермией, которая выявляется у 4-6% [1,71] инфертильных мужчин. Принято различать 2 основных типа азооспермии: необструктивную (секреторное бесплодие) и обструктивную (эскреторное бесплодие). Необструктивная азооспермия связана с различными нарушениями сперматогенеза, при этом семявыносящие пути остаются проходимыми. Как правило, факторами, приводящими

к необструктивной азооспермии являются эндокринные нарушения, недоразвитие гениталий, генетические нарушения (микроделеции AZF (Azoospermia Factor) локуса Y хромосомы, мутация гена муковисцидоза).

Одними из наиболее тяжелых патологий, вызывающих азооспермию, являются мутации генов, контролирующих этапы сперматогенеза, которые могут приводить к блоку сперматогенеза, проявляясь в диапазоне от легкого снижения сперматогенной активности

© Машкин А.И., Филимоненкова В.Ю., Юшко Е.И., 2013 г.

Современные проблемы гуманитарных и естественных наук 25–26 июня 2013 г.

**429**

до полного отсутствия половых клеток в семенных канальцах (синдром «только клетки Сертоли»), нарушению подвижности, морфологических и фертильных свойств сперматозоидов. Примером подобной патологии являются микроделеции AZF локуса Y хромосомы.

Микроделеция Y хромосомы – это выпадение определенных участков Y хромосомы - AZF локуса (фактора азооспермии). AZF locus находится в длинном плече Y-

хромосомы (q11). Гены, расположенные в этом локусе, играют важную роль в процессе сперматогенеза. Микроделеции локуса AZF [8,120; 9,493; 10,689; 11,939] хромосомы Y обнаруживаются в среднем в 10-15% случаев азооспермии и в 5-10% случаев олигозооспермии тяжелой степени [6,4] и обуславливают нарушения сперматогенеза и бесплодие у мужчин. AZF-locus содержит три неперекрывающихся субрегиона: AZFa, AZFb и AZFc, которые содержат ряд критических генов, мутации которых приводят к азооспермии или олигозооспермии тяжелой степени. Делеции AZFa- и AZFb-субрегионов ассоциированы с невозможностью получения зрелых половых клеток, в связи с чем биопсия

ткани яичка таким пациентам не показана, тогда как у пациентов с утратой субрегиона AZFc

примерно в 71% случаев удается получить зрелые сперматозоиды. У мужчин с AZF-микроделециями часто отмечается прогрессирование нарушений сперматогенеза в связи с чем, таким пациентам показана криоконсервация полученных сперматозоидов.

Обследование пациентов с азооспермией и олигозооспермией тяжелой степени в

отношении состояния AZF локуса Y хромосомы позволяет: установить генетическую причину нарушений сперматогенеза; проводить дифференциальную диагностику бесплодия

у мужчин; корректировать терапевтические подходы, избегая "лишнего" лечения; прогнозировать возможность получения сперматозоидов для ICSI (intracytoplasmic sperm

injection, интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида); прогнозировать возможность

получения сперматозоидов при тестикулярной биопсии; прогнозировать для потомства мужского пола возможность наследования репродуктивных проблем отца; информировать супругов о возможности использования предимплантационной диагностики с целью определения пола и переноса эмбрионов женского пола (после проведения ICSI), для исключения наследования репродуктивных проблем отца.

Таким образом, благодаря использованию такого метода вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), как ЭКО+ICSI, часть пациентов, имеющих микроделеции AZF локуса Y хромосомы, может иметь собственное потомство. Для дифференциальной диагностики обструктивных и необструктивных форм мужского бесплодия используется рентгенконтрастное исследование проходимости семявыносящих путей, трансуретральная катетеризация устья семявыносящего протока и др. Конечным этапом является использование пункционной биопсии. Данная процедура носит как диагностический, так и лечебный характер, т.к. при наличии в биоптате единичных сперматозоидов их можно в дальнейшем использовать при проведении такого метода ВРТ как ICSI. Существует большое разнообразие методов проведения данной процедуры, однако, на наш взгляд наиболее приемлемым и часто используемым является TESA (testicular sperm aspiration) - чрезкожная аспирационная биопсия яичка, в связи с простотой ее выполнения и малоинвазивностью [2,432; 3,36; 4,184].

### **Цели и задачи**

Целью данной работы стали анализ структуры мужского бесплодия и возможных факторов наступления инфертильного состояния и утяжеления его степени, изучение результатов клинических и лабораторных исследований пациентов с необструктивной азооспермией и оценкой материала, полученного при использовании TESA для повышения

эффективности диагностики и лечения у данной категории пациентов.

Современные проблемы гуманитарных и естественных наук 25–26 июня 2013 г.

**430**

### **Задачи:**

1. Определить группу пациентов нуждающихся в диагностике генетических факторов, приводящих к мужскому бесплодию.
2. Определить удельный вес пациентов с азооспермией и олигозооспермией тяжелой степени имеющих микроделеции AZF локуса Y хромосомы.
3. Определить категорию пациентов имеющих делеции разных субрегионов AZF- локуса Y- хромосомы связанные с невозможностью получения зрелых сперматозоидов.
4. Определить эффективность диагностической биопсии ткани яичка в качестве лечебной процедуры для проведения ВРТ (ЭКО, ICSI).

### **Материалы и методы.**

Объект исследования мужчины с азооспермией или олигозооспермией тяжелой степени. Безусловно, молекулярно-генетическое исследование необходимо проводить всем

мужчинам перед планируемым ICSI. Кроме того, исследование AZF-локуса на наличие микроделений выполнялось у мужчин с показателем количества сперматозоидов менее 5 млн/мл. [7,295]. Так как чаще всего микроделеции обнаруживаются у мужчин с идиопатическим бесплодием (бесплодием неясного генеза), то им в первую очередь

показано обследование AZF-локуса на наличие микроделеций. У части пациентов с микроделециями Y-хромосомы в анамнезе могут быть и другие (негенетические) причины нарушения сперматогенеза, такие как половые инфекции, варикоцеле, крипторхизм, которые сами по себе редко приводят к столь глубоким нарушениям сперматогенеза. Проводимое комплексное обследование включало методы рекомендованные ВОЗ для диагностики бесплодия [5,62; 13], а при оценке результатов за стандарты принимались нормативные показатели, рекомендованные ВОЗ в 2001 г. [12].

I. Клинические методы:

1. Первичный опрос (сбор анамнеза и изучение представленной медицинской документации).
2. Общее медицинское обследование.
3. Обследование мочеполовой системы (включая пальцевое ректальное исследование предстательной железы и семенных пузырьков).
4. Обследование терапевтом, генетиком, сексопатологом (по показаниям).

II. Лабораторно-диагностические методы:

1. Спермограмма (минимум дважды).
2. Общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи.
3. Определение титра антиспермальных антител (по показаниям).
4. Посткоитальный тест.
5. Медико-генетическое исследование (исследование кариотипа).
6. Микроскопическое исследование секрета простаты и семенных пузырьков.
7. Исследование на ИППП.
8. Гормональный скрининг (фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеонизирующий гормон (ЛГ), пролактин (ПРЛ), свободный тестостерон (Т), 17-эстрадиол (Е2)).
9. Ультразвуковое исследование простатовезикулярного комплекса и органов мошонки с обязательным определением объема яичек и исследованием придатков.
10. Тестикулярная биопсия (TESA).

#### **Результаты и их обсуждение.**

В основу работы положены результаты, полученные при проведении диагностики и лечения тяжелых форм мужского бесплодия в клинике «Центр репродуктивной медицины»

г. Минск, Республика Беларусь.

Современные проблемы гуманитарных и естественных наук 25–26 июня 2013 г.

#### **431**

Диагноз \_\_\_\_\_ азооспермии (тяжелой олигозооспермии) у исследуемых пациентов устанавливался на основании показателей спермограммы, а проведение комплексного обследования и TESA позволяло подтвердить данный диагноз и уточнить тип азооспермии.

Всего было обследовано на микроделеции AZF-субрегиона 423 пациента.

Из них: 320 мужчин с азооспермией, 103 пациента с единичными сперматозоидами в эякуляте. Микроделеции AZF выявлены у 22 человек (5,2%) из 423 : из 320 пациентов с азооспермией- у 18 человек (5,62%), из 103 пациентов с единичными сперматоцитами- у 4 (3,9%). При оценке гормонального статуса у 16 (88,9%) из 18 человек с азооспермией ФСГ превышал 12, тестостерон был снижен у 14 (77,7%).

Делеция локуса AZF-с наблюдалась у 19 (4,5%) пациентов (из них у 15 пациентов с азооспермией и у 4 с единичными сперматозоидами в эякуляте), делеция AZFb и с локуса у

2 (0,5%), делеция локуса b у 1 (0,2%).

Процедура ЭКО+ICSI выполнялась 4 пациентам из 22 с единичными сперматозоидами в эякуляте, при этом в 2 (50%) случаях наступила беременность, закончившаяся срочными родами (родились девочки).

Диагностическая биопсия по методике TESA проводилась 18 пациентам с азооспермией из 22, у которых были выявлены делеции AZF субрегиона. В случае сочетания делеции локусов AZFb и c (3 случая) сперматозоиды не получены. В 15 случаях делеции локуса AZF-c у 5 (33,3%) сперматозоиды не получены, у 10 (66,7%) получены единичные сперматозоиды, которые подверглись криоконсервации. Процедура ЭКО+ICSI с

использованием криоконсервированного материала проведена 8 пациентам из 10 (2 проходят подготовку). В 3 (37,5%) случаях наступила беременность, из них в 2 случаях- срочные роды, в 1 случае- спонтанный аборт в 7-8 недель.

#### **Выводы.**

1. К группе пациентов, нуждающихся в диагностике генетических факторов infertility, следует отнести: всех мужчин с идиопатическим бесплодием, мужчин с азооспермией и тяжелыми формами олигозооспермии.
2. Общее количество мужчин, имеющих делецию AZF-локуса Y-хромосомы составило 22 (5,2%) человека из 423 обследованных.
3. Вероятность отсутствия сперматозоидов при проведении биопсии у мужчин с делециями AZFb ,AZFb+c составила 100%, в случаях с микроделецией локуса c -33,3%
4. Вероятность наступления беременности при проведении ЭКО+ИКСИ при использовании криоконсервированного биоптата у мужчин с микроделециями локуса c составила 37,5%
5. Исследование микроделеций AZF локуса Y-хромосомы у мужчин с тяжелой формой олигоспермии и азооспермии является важным диагностическим и прогностическим критерием, определяющим рациональную тактику лечения, выбор метода преодоления бесплодия и показаний к предимплантационной диагностике пола потомства.

#### **Литература**

1. Корякин М.В. Анализ причин мужского бесплодия/ Корякин М.В., Акопян А.С.// Проблемы репродукции. 2000.№5. С.68-74.
2. Кулаков В.И. Лечение женского и мужского бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии/ Кулаков В.И. [и др.]//М.: МИА,2005. - 592 с.
3. Леонов Б.В. Наш опыт применения метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в программе экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона в полость матки/ Леонов Б.В. [и др.]//Акушерство и гинекология. 1999.№4. С. 35-38.
4. Нишлаг Э. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы./ Нишлаг Э., Бере Г.М.// Пер. с англ. МИА, 2005.
5. Современные проблемы гуманитарных и естественных наук 25–26 июня 2013 г. **432**
5. Тер-Авнесов Г.В. Мужское бесплодие: этиопатогенез, диагностика и лечение / Тер-Авнесов Г.В. // Москва, 2007. 114 с.
6. Krausz C., McElreavey K. Y chromosome and male infertility. *Frontiers in Bioscience* 1999; 4: 1-8.
7. Simoni M. et al. Laboratory guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletion. *Intern J Andrology* 1999; 22: 292-299.
8. Tiepolo L., Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the non fluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976; 34: 119-124.
9. Vogt P.H., Chandley A.C., Hargreave T.B. et al. Microdeletions in interval 6 of the Y chromosome

- of males with idiopathic sterility point to disruption of AZF, a human spermatogenesis gene. Hum Genet 1992; 89: 491-496.
10. Vogt P.H., Edelmann A., Hirschmann P. et al. The azoospermia factor (AZF) on the human Y chromosome in Yq11: function and analysis in spermatogenesis. Reprod Fertil Dev 1995; 7: 685-693.
11. Vogt P.H., Edelmann A., Kirsh S. et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. Hum Mol Genet 1996; 5: 933-943.
12. World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge University Press. Cambridge. 2001.
13. World Health Organization. Manual for the standardized investigation and diagnosis of the inf\_\_
-