

Необструктивная азооспермия – клинические рекомендации

Профессор С.И. Гамидов¹⁻³, А.Ю. Попова^{1,3}, к.м.н. Р.И. Овчинников¹

¹ ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России

² ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

³ ГБОУ ВПО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России

Для цитирования. С.И. Гамидов, А.Ю. Попова, Р.И. Овчинников. Необструктивная азооспермия – клинические рекомендации // РМЖ. 2015. № 11. С. 595–601.

Введение

Азооспермия определяется как полное отсутствие сперматозоидов в эякуляте. Распространенность азооспермии в популяции всех мужчин составляет примерно 1%, среди бесплодных мужчин – 10–15% [2, 3]. В подавляющем большинстве случаев азооспермия связана с рядом необратимых нарушений работы яичек, приводящих к угнетению сперматогенеза [4]. Такие нарушения чаще всего связаны с генетическими, эндокринными, а также воспалительными заболеваниями. Но, несмотря на выраженные изменения сперматогенеза, у данной категории пациентов имеется шанс зачатия ребенка. В таких ситуациях сохранность сперматогенеза может быть очаговой и присутствует в 10–50% случаев в тканях яичек [5, 6]. При этом получение сперматозоидов возможно только при выполнении биопсии яичек, с последующим их использованием в процедуре интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в яйцеклетку (ИКСИ) [5–9]. Тем не менее при лечении бесплодных мужчин с необструктивной азооспермией (НОА) андрологи сталкиваются с множеством трудностей. К их числу относятся определение шансов успешной биопсии, а также выбор наилучшего метода получения сперматозоидов, результативность программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и рождение здорового ребенка. В такой ситуации необходим четкий алгоритм обследования для определения тактики ведения пациентов (рис. 1).

Дифференциальная диагностика

Спермограмма

Больные с НОА обычно имеют нормальный объем (>1,5 мл) эякулята и значение pH (>7,2), что говорит о

нормальном состоянии семенных пузырьков и отсутствии обструкции в семявыносящих каналах пациента [2, 10].

После оценки объема эякулята изучают центрифугированную сперму для исключения криптозооспермии, которая определяется как присутствие очень маленького числа живых сперматозоидов [2]. Обнаружение живых сперматозоидов может позволить провести ИКСИ с их использованием, что исключает проведение хирургического извлечения сперматозоидов. До 10% пациентов, которым изначально определили отсутствие сперматозоидов в эякуляте, удастся получить сперматозоиды для ИКСИ после дополнительного анализа центрифугированного образца [13].

Диагноз азооспермии подтверждают по нескольким спермограммам, поскольку возможна транзиторная азооспермия, которая может быть связана с воздействием токсических веществ, факторов окружающей среды, инфекций или ятрогенных факторов [14, 15].

Клинический диагноз

У подавляющего большинства пациентов НОА можно на клиническом уровне отличить от обструктивной азооспермии (ОА) путем тщательного анализа диагностических показателей, в т. ч. анамнеза, результатов медицинского осмотра и анализа уровней гормонов. Эти показатели позволяют с достаточно высокой уверенностью определить, обструктивный или необструктивный характер имеет азооспермия (табл. 1) [16].

Это важно, поскольку при ОА, в отличие от НОА, определяется сохранность сперматогенеза [9, 17, 18]. В случае ОА чаще всего происходит механическая обструкция в каком-либо участке половых путей: семявыносящем протоке, семенных канальцах.

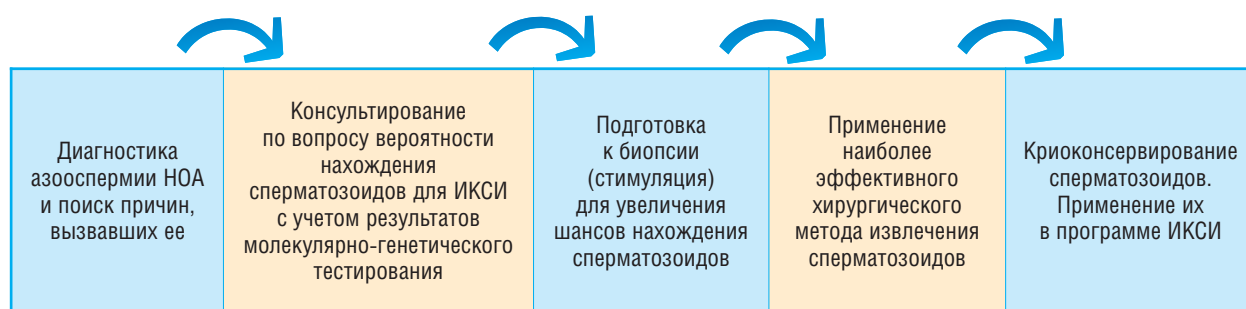


Рис. 1. Поэтапный подход к ведению бесплодных мужчин с НОА

В целом при ОА высок процент успеха реконструктивных операций, восстанавливающих проходимость семявыносящих путей, а также пункционных видов биопсии яичек [19–21], несмотря на это, имеются исследования, которые демонстрируют угнетение функции яичек, связанное с длительностью и уровнем обструкции.

Говоря о НОА, в качестве более благоприятного для терапии состояния следует отметить гипогонадотропный гипогонадизм (ГГ). ГГ – редкое эндокринное заболевание, характеризующееся недостаточностью сперматогенеза вследствие отсутствия стимуляции его гонадотропинами [22]. Пациентов с ГГ легко распознать по крайне низкому уровню гонадотропинов гипофиза и андрогенов (фолликулостимулирующий (ФСГ) и лютеинизирующий гормоны (ЛГ) <1,2 МЕ/мл; тестостерон (Т) <300 нг/дл), а также отсутствию или недостаточной маскулинизации [3, 22]. Эта категория больных с НОА включает как врожденные, так и приобретенные формы ГГ. Больным ГГ назначается гормональная терапия препаратами гонадотропинов или гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), и у них часто восстанавливается сперматогенез [22].

Но, к сожалению, в основе НОА часто лежат более тяжелые, необратимые нарушения: генетические (микроделеции Y-хромосомы и синдром Клайнфелтера (КС))

и врожденные (аплазия яичек, крипторхизм), осложнения инфекций (орхит при паротите), воздействие на синтез гонадотропинов (лучевой или химиотерапии), травма яичек. Также НОА может быть идиопатической. Поэтому у всех пациентов с азооспермией следует собирать анамнез и проводить медицинский осмотр для определения генеза НОА (табл. 1) [3, 7]. Во время осмотра пациентов особое внимание уделяют половому развитию. У мужчин с неполной маскулинизацией, например при КС, обычно слишком длинные конечности и неполное оволосение [23]. Очень важны пальпация и измерение обоих яичек, поскольку при НОА они обычно маленькие и дряблые. Если учесть, что примерно 85% паренхимы яичек участвует в сперматогенезе, то чем меньше яички, тем меньше образуется сперматозоидов [3, 16]. С учетом этого факта у таких мужчин следует проводить ультразвуковое исследование мошонки [3, 23]. Во время осмотра необходимо обращать внимание на вены гроздевидного сплетения.

Всем пациентам с азооспермией определяют уровни ФСГ, ЛГ и общего Т, а также пролактина [3], эстрадиола (Э) и прогестерона. У большинства больных с НОА уровень ФСГ повышен (>7,6 МЕ/мл) [16, 18, 26]. Уровень ЛГ у этих мужчин обычно повышен или близок к

Таблица 1. Дифференциальная диагностика азооспермии

Параметр	Необструктивная		Обструктивная
	Гипергонадотропный гипогонадизм	Гипогонадотропный гипогонадизм	
Наиболее распространенные этиологии	МДХ, КС, крипторхизм, осложнения инфекций (например, орхит при паротите), лучевая терапия, химиотерапия, травма / перекрут яичек; идиопатическая	Врожденный (например, синдром Каллмана, нормосмический ГГ, синдром Прадера – Вилли), приобретенный (например, опухоль гипофиза, злоупотребление стероидами)	Послеоперационная (например, вазэктомия, удаление кисты семенных канальцев, лечение грыжи, хирургическая операция на мошонке, простатэктомия), CBAVD; послеинфекционная; обструкция семяизвергательных каналов, ятрогенная (например, после урологической эндоскопической операции), идиопатическая
Медицинский осмотр	Уменьшение объема яичек (суммарный объем <15 мл) или нормального размера; нормальные придатки яичек и пальпируемые семенные канальцы	Уменьшение объема яичек (объем <15 мл); маленькие придатки яичек и пальпируемые семенные канальцы	Нормальные или увеличенные придатки яичек, пальпируемые или непальпируемые семенные канальцы (например, CBAVD), яички нормального размера (объем >15 мл)
Спермограмма	Нормальный объем эякулята (>1,5 мл) и pH (>7,2); у мужчин с гипогонадизмом может наблюдаться гипоспермия (эякулят <1,5 мл)	Низкий объем эякулята (<1,5 мл) и нормальное значение pH	Нормальные или низкие значения pH и объем эякулята (например, CBAVD и EDO)
Эндокринные показатели	Повышенный (>7,6 мМЕ/мл) или нормальный уровень ФСГ; повышенный или нормальный уровень ЛГ, низкий (<300 нг/дл) или нормальный общий уровень Т	Низкий уровень ФСГ и ЛГ (<1,2 мМЕ/мл), низкий общий уровень Т (<300 нг/дл)	Нормальный уровень ФСГ (<7,6 мМЕ/мл) и ЛГ; нормальный общий уровень Т (>300 нг/дл)
Генетическое тестирование	Немозаический (47, XXY) и мозаический (46, XY / 47, XXY) КС; примерно в 15% случаев отмечаются МДХ AZF Yq	При врожденном ГГ могут выявляться мутации генов KAL-1, FGFR-1, PR OK- 2, PROKR-2, CHD-7 и FGF-8	У мужчин с CBAVD обычно выявляются мутации гена CFTR
Биопсия яичек	Гипосперматогенез; ОС; АГК; атрофия канальцев; смешанная картина	Неприменимо	Нормальный сперматогенез

Примечание: CBAVD – врожденная двусторонняя аплазия семенных канальцев; CFTR – муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости; CHD-7 – связывающий ДНК белок с доменами хромо- и геликазы-7; EDO – обструкция семяизвергательных каналов; FGFR-1 – рецептор фактора роста фибробластов-1; FGF-8 – фактор роста фибробластов-8; KAL-1 – 1-я последовательность синдрома Каллмана; PROK-2 – прокинетицин-2; PROKR-2 – рецептор прокинетицина-2; МДХ – микроделеции Y-хромосомы; Yq – длинное плечо Y-хромосомы; AZF – фактор азооспермии

верхней границе нормы. Поскольку отрицательная обратная связь секреции ФСГ и ЛГ определяется количеством сперматогониев и клеток Лейдига, уровни ФСГ и ЛГ могут быть нормальными [24]. Гипогонадизм определяется низким уровнем Т (<300 нг/дл), отмечается примерно у половины больных с НОА и обычно отражает недостаточность клеток Лейдига [27–29]. Низкий уровень Т также может быть следствием ожирения, при котором повышается уровень Э в сыворотке крови в связи с усилением ароматизации С19-андрогенов ароматазой в периферических тканях [30–32]. Повышенный уровень Э (>60 пг/мл) подавляет секрецию ЛГ и ФСГ и напрямую ингибирует биосинтез Т [30]. Низкий уровень Т у мужчин, страдающих ожирением, также может отражать адаптацию к изменениям уровня глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ), а не истинный дефицит Т [33]. Поэтому необходимо оценивать уровень Э и ГСПГ в сыворотке у мужчин с азооспермией и ожирением. Эти анализы могут помочь принять решение относительно лечения перед выполнением биопсии яичек. По причине суточных колебаний уровня Т кровь для его измерения забирают до 10:00 [27, 34].

Из-за необратимого характера поражения сперматогенеза у больных с НОА биопсия яичек и ВРТ являются единственной возможностью получить биологическое потомство. Однако неопределенность исхода биопсии яичек заставляет искать надежные прогностические факторы.

Клинико-лабораторные показатели

К сожалению, на сегодняшний день прогностическая ценность существующих маркеров, таких как ФСГ и Т сыворотки, уровень ингибина Б, а также суммарного объема яичек достаточно низка. Это подтверждается

многочисленными зарубежными и собственными исследованиями. И даже после объединения клинических и лабораторных параметров, результатов гистопатологического анализа, этиологии заболевания эти результаты также не могут являться надежным прогностическим фактором [40].

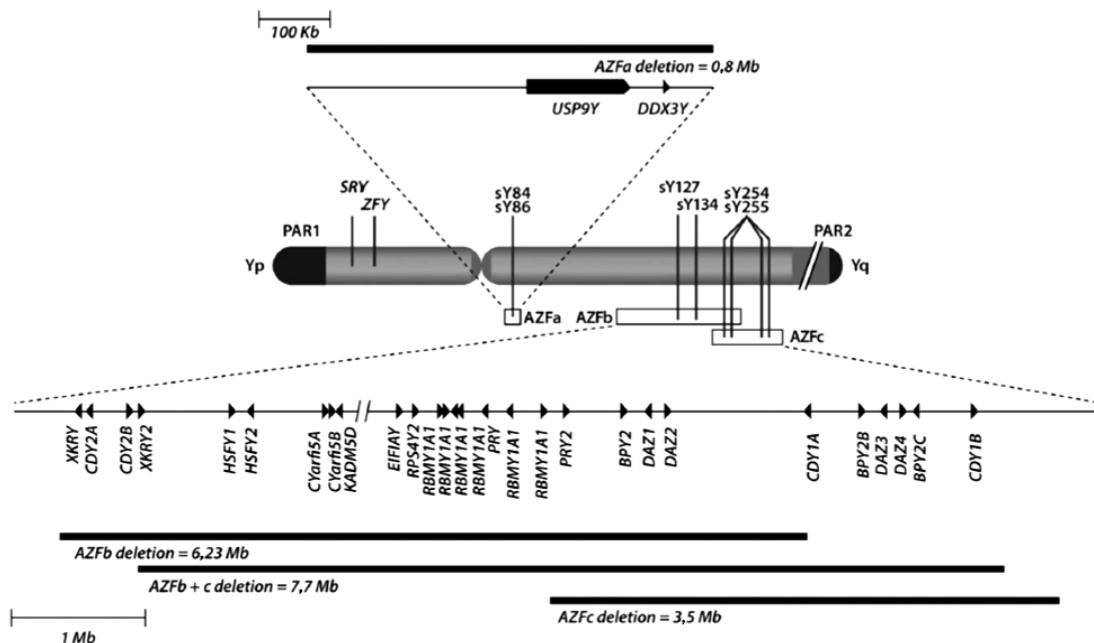
По результатам обследования 101 мужчины с НОА в нашей клинике сперматозоиды были найдены у 59,1% мужчин после микрохирургической биопсии яичка [41]. Нами были сделаны выводы о том, что хотя такие факторы, как этиология, объем яичек и уровни гонадотропинов гипофиза в сыворотке могут отражать общее состояние сперматогенеза, они не позволяют точно определить, следует ли пациенту выполнять биопсию, и выделить пациентов с большей вероятностью успеха этой манипуляции.

Молекулярно-генетическое исследование

Молекулярная диагностика – это важный диагностический метод, позволяющий не только выявить мужчин, у которых НОА вызвана генетическими проблемами, но и определить шансы пациентов на успех биопсии [46–53].

Микроделеция – это делеция части хромосомы, которая обычно затрагивает несколько генов, но имеет небольшой размер и не выявляется обычными цитогенетическими методами, такими как кариотипирование [53, 54]. Длинное плечо Y-хромосомы содержит область Yq11, в которой расположены 26 генов, участвующих в регуляции сперматогенеза [49, 53, 55, 56]. Эту область называют AZF (azoospermia factor, «фактор азооспермии»), поскольку происходящие в ней микроделеции часто связаны с азооспермией (рис. 2). Молекулярно-биологические исследования позволили выявить 3 участка AZF, назван-

(AZF)



Примечание. В центре изображена Y-хромосома, черным на ее концах отмечены псевдоаутосомные участки (PAR1 и PAR2). Полная делеция AZFa равна 0,8 Мб и занимает участок ~12,9–13,7 Мб хромосомы. Участок AZFa содержит 2 однокопийных гена, USP9Y и DDX3Y (представленные на рисунке 2-мя треугольниками, ориентированными по направлению 3'–5'). Полная делеция AZFb равна 6,23 Мб и занимает участок ~18–24,7 Мб хромосомы, а полная делеция AZFc равна 3,5 Мб и занимает участок от ~23 до 26,8 Мб хромосомы. Оба участка содержат множество генов, изображенных в нижней части рисунка [54]. Жирными вертикальными чертами обозначен базовый набор праймеров, которые предлагается использовать у мужчин с азооспермией и недостаточностью сперматогенеза в рекомендациях Европейской ассоциации андрологов и Европейской сети обеспечения качества молекулярно-генетических исследований 2013 г. [56]

Рис. 2. Карта Y-хромосомы человека с участками и генами области фактора азооспермии

ные AZFa, AZFb и AZFc и содержащие по одному основному гену-кандидату AZF [56]. Микроделеции в области AZF выявляются примерно у 10% мужчин с НОА [49].

Чаще всего выявляются делеции на участке AZFc (~80%), за которым следуют AZFb (1–5%), AZFa (0,5–4%) и AZFbc (1–3%) [54–56]. Делеции в этих участках области AZF вызывают видимые нарушения развития половых клеток.

Делеции фактора азооспермии, при которых удаляется весь участок AZFa, всегда связаны с тестикулярной гистопатологической картиной – тотальной аплазией герминогенного эпителия, без областей активного сперматогенеза. Поэтому микроделеция в участке AZFa означает практически нулевые шансы на успех биопсии яичка [46, 48–50, 59].

Клинические проявления полных делеций AZFb и AZFbc сходны с таковыми AZFa, поскольку шансы на успешность биопсии близки к нулю [46, 48, 50]. Блок или остановка сперматогенеза – наиболее частый тестикулярный гистопатологический фенотип делеций AZFb и AZFbc, но встречается и аплазия герминогенного эпителия [49].

У пациентов с делецией AZFc, напротив, обычно имеется очаговый сперматогенез: биопсия яичка успешна в 50–70% случаев [47, 49]. У таких мужчин микроделеции AZFc, по-видимому, не влияют на вероятность зачатия ребенка с помощью ИКСИ [47, 62–66], хотя некоторые исследователи отмечали нарушения развития эмбриона [49, 67]. Сыновья мужчин с микроделециями AZFc могут унаследовать этот генетический порок, следовательно, иметь бесплодие. В таком случае необходима генетическая консультация по поводу риска зачатия сына с бесплодием и другими генетическими нарушениями.

В настоящее время имеются работы, в которых продемонстрированы исследования микроделеций в регионе AZFc у здоровых мужчин, в которых также были обнаружены делеции, но при этом сперматогенез не страдал.

После генетического анализа больным, не имеющим полной микроделеции AZFa, AZFb или AZFc и других нарушений кариотипа, связанных с отсутствием сперматогенеза, предлагается биопсия яичек с целью получения сперматозоидов.

Роль предоперационной терапии, проводимой перед извлечением сперматозоидов

Медикаментозное лечение

Пациенты с ГГ имеют высокий шанс на получение сперматозоидов при приеме экзогенных гонадотропинов, в то время как у мужчин с нормогонадотропной или гипергонадотропной функцией гипофиза эмпирическое медикаментозное лечение считается менее эффективным из-за высокого уровня гонадотропинов в крови. Тем не менее такое лечение может быть потенциально полезным мужчинам с НОА, поскольку стимуляция клеток Лейдига и Сертоли эндогенными гонадотропинами очень слаба. Секреция гонадотропинов определяется частотой, амплитудой и продолжительностью ее импульсов, но из-за высоких исходных уровней эндогенных гонадотропинов у большинства мужчин с НОА относительные амплитуды секреции ФСГ и ЛГ низки [71–74]. Кроме того, примерно у половины этих мужчин низок эндогенный уровень общего Т (<300 нг/дл), вследствие чего уровень Т в яичках у них может быть слишком низким для нормальной регуляции сперматогенеза в сочетании с достаточной стимуляцией клеток Сертоли ФСГ [27–29].

Для стимуляции сперматогенеза применяются следующие препараты: кломифена цитрат (КЦ), гонадотропины и ингибиторы ароматазы (ИА) [30, 75]. КЦ, селек-

тивный модулятор эстрогеновых рецепторов, конкурентно связывается с эстрогеном на рецепторах к нему в гипоталамусе и гипофизе. После введения КЦ гипофиз воспринимает меньшее количество эстрогена, что способствует секреции ФСГ и ЛГ. Последний связывается с рецепторами на клетках Лейдига и вызывает синтез андрогенов, в результате повышается уровень Т [30]. Человеческий хорионический гонадотропин (чХГ) – гликопротеин, сходный по строению с нативным ЛГ, но обладающий более высоким сродством к рецепторам и длительным периодом полувыведения [76]. В клетках Лейдига чХГ связывается с теми же рецепторами к ЛГ и также стимулирует продукцию андрогенов. С другой стороны, ИА ингибируют фермент ароматазу, присутствующий в жировой ткани, печени, яичках и коже и отвечающий за превращение Т и других андрогенов в Э. Пероральный прием ИА позволяет восстановить нарушенное соотношение Т к Э (Т/Э), часто наблюдаемое у мужчин с ожирением [29, 31, 77]. На сегодняшний день данная терапия имеет эмпирический характер, подбирается индивидуально, эффективность достигается при успешном повышении уровня эндогенного Т даже при повышенном уровне гонадотропинов (табл. 2) [29, 77–82].

Точный механизм положительного воздействия медикаментозного лечения пока неизвестен, но предполагается, что повышение уровня Т в яичках стимулирует синтез ДНК сперматогониев и спермиогенез у пациентов с остаточной сперматогенной активностью [71, 90, 91]. Это может привести к формированию хорошо дифференцированных семенных канальцев, которые можно извлечь путем биопсии яичек. Хотя имеющиеся данные показывают, что вышеупомянутые препараты увеличивают синтез эндогенного Т, точное заключение об их действии на образование сперматозоидов еще нельзя сделать по причине отсутствия хорошо спланированных клинических исследований.

Лечение варикоцеле

Варикоцеле – еще один важный вопрос лечения НОА. Данная патология обнаруживается примерно у 5% мужчин с НОА [92]. На сегодняшний день точно не установлено, играет ли варикоцеле роль в нарушении сперматогенеза у таких мужчин, но его хирургическое лечение направлено на улучшение образования сперматозоидов [92–94]. Цели лечения – добиться появления небольшого количества сперматозоидов в эякуляте, что порой позволяет избежать биопсии яичек, либо повысить вероятность ее успеха.

Недавний метаанализ 11 когортных исследований с участием в совокупности 233 пациентов с НОА и клиническим варикоцеле показал, что после микрохирургического лечения варикоцеле и контрольного наблюдения после операции в среднем в течение 13 мес. подвижные сперматозоиды были найдены в эякулятах 39% мужчин [93]. При среднем количестве сперматозоидов 1,6 млн/мл 26% мужчин удалось зачать ребенка естественным путем или с применением ВРТ. Анализ биоптатов яичек, взятых до или во время лечения варикоцеле, показал, что гипосперматогенез и блок сперматогенеза были в значимо большей степени связаны с присутствием сперматозоидов в эякуляте после операции по сравнению с аплазией герминогенного эпителия (отношение шансов (ОШ) 9,4, 95% доверительный интервал (ДИ) 3,2–27,3).

Хотя описанные исследования и показывают, что примерно у 1/3 мужчин с НОА после варикоцелэктомии улучшается сперматогенез и появляются сперматозоиды в эякуляте, у большинства пациентов азооспермия сохраняется, и требуется биопсия. Основываясь на дан-

Таблица 2. Краткий обзор эмпирического медикаментозного лечения бесплодных мужчин с НОА

Исследование	Дизайн	Исследуемая группа	Контрольная группа	Лекарственные препараты	Основные результаты
C.P. Pavlovich et al. [77]	Проспективная когорта	43 мужчины с Т/З <10	Н/П	ИА (тестостерон), 50–100 мг 2 р./сут, в среднем в течение 5 мес.	Ни у одного из 12 мужчин, прошедших 3 мес. лечения, в эякуляте не было сперматозоидов. Отношение Т/З вернулось к норме (>10) у всех получивших лечение мужчин
A. Hussein et al. [78]	Проспективная когорта	42 мужчины с благоприятными гистологическими показателями (гипосперматогенез или ОС)	Н/П	КЦ 50 мг через 1 сут в течение в среднем 5 мес. Увеличение дозы с шагом 25 мг до достижения целевого уровня Т от 600 до 800 нг/дл	У 63,4% мужчин в эякуляте после лечения были сперматозоиды (средняя концентрация – $3,8 \times 10^6$ / 1 мл, подвижность – 20,8%; у всех мужчин (n=15) с сохранившейся азооспермией были успешно извлечены сперматозоиды
H. Selman et al. [79]	Проспективная когорта	49 мужчин с нормальными эндокринными и генетическими показателями, у которых диагностическая биопсия яичек показала ОС и отсутствие сперматозоидов во влажном препарате	Н/П	Рек-чФСГ, 75 МЕ п/к через 1 сут в течение 2 мес., затем повышение дозы до 150 МЕ и добавление чХГ (2000 МЕ п/к 2 р./нед.) еще на 4 мес.	Ни у одного пациента в сперме не появились сперматозоиды. ЧИС после лечения составила 21,4%
R. Ramasamy et al. [80]	Ретроспективная когорта	56 мужчин с немозаическим КС и уровнем Т <3000 нг/дл	Н/П	Тестостерон (50–100 мг) или анастрозол (1 мл) внутрь, по отдельности или в комбинации с п/к чХГ (до 2500 МЕ 3 р./нед.) в течение не менее 3 мес.	У мужчин, ответивших на лечение (уровень Т 250 нг/дл или выше), ЧИС была в 1,4 раза выше (77% против 55%, p=0,03), чем у мужчин с уровнем Т после лечения <250 нг/дл
J.E. Reifsnnyder et al. [29]	Ретроспективная когорта	307 мужчин с уровнем Т <300 нг/дл	41 мужчина с уровнем Т <300 нг/дл, 388 мужчин с уровнем Т выше 300 нг/дл	ИА (50–100 мг тестостерона внутрь 2 р./сут или 1 мг анастрозола ежедневно), чХГ (в дозе 1500–2000 МЕ п/к 2 или 3 р./нед.) и КЦ, по отдельности или в комбинации, в течение не менее 2–3 мес. перед операцией	Ни у одного из пациентов в эякуляте не появились сперматозоиды. ЧИС у мужчин с исходно низким Т, получавших (5%, n=307) и не получавших (61%, n=41) лечение, не различалась. ЧИС у мужчин с Т <300 нг/дл, получавших (51%, n=307) лечение, и мужчин с Т >300 нг/дл, не получавших (51%, n=388) лечение, не различалась
K. Shiraishi et al. [81]	Проспективная когорта	28 мужчин с идиопатической* НОА и отрицательными исходами биопсии	20 мужчин с идиопатической* НОА и отрицательными исходами биопсии	Не менее чем через 6 мес. после первой попытки ИС мужчины получали чХГ (5000 МЕ п/к 3 р./нед.) в течение 3 мес. После снижения уровня ФСГ вследствие приема чХГ (<3 МЕ/мл) еще на 2 мес. добавляли Рек-чФСГ, 150 МЕ п/к 3 р./нед.)	Сперматозоиды были получены со второй попытки ИС у 6 (21%) из 28 получавших лечение мужчин, но ни у одного из не получавших лечение (p<0,05)
A. Hussein et al. [82]	Проспективная когорта	612 обратившихся в клинику мужчин	116 обратившихся в клинику мужчин	КЦ (50 мг через 1 сут) по отдельности или в комбинации с чХГ (5 тыс. МЕ п/к 2 р./нед.) и чМГ (75 МЕ п/к 1 р./нед.) в течение в среднем 5,4 мес.	Сперматозоиды были найдены в эякуляте 10,9% получавших лечение мужчин. У пациентов с сохранившейся азооспермией ЧИС была выше, если они получали медикаментозную терапию, а не входили в контрольную группу (57,0% против 33,6%, p<0,001)

Примечания. * – Критерии исключения: КС, объем яичек <4 мл, уровень Т <200 нг/дл, варикоцеле и крипторхизм.

чМГ – человеческий менопаузальный гонадотропин; МЕ – международные единицы; Рек-чФСГ – рекомбинантный человеческий ФСГ; п/к – подкожно; ИС – извлечение сперматозоидов; ЧИС – частота извлечения сперматозоидов; Н/П – неприменимо

ных литературы и нашем собственном опыте, мы предлагаем микрохирургическое лечение варикоцеле перед биопсией для повышения эффективности последней. Исследования в этой области небольшие и имеют ретроспективный характер, поэтому требуются контролируемые исследования относительно роли лечения варикоцеле при НОА.

Выбор метода извлечения сперматозоидов

Для пациентов с НОА при отсутствии оптической техники предпочтение отдается стандартной тестикулярной экстракции сперматозоидов (TESE) [98]. Обычно берут и изучают несколько биоптатов ткани яичек в нескольких случайным образом выбранных местах, поскольку до TESE невозможно предсказать, где будут найдены сперматозоиды или островки нормального сперматогенеза, если таковые есть [5, 7, 40, 98, 99]. Недостаток TESE состоит в том, что удаление больших фрагментов тканей яичка может вызвать временное или постоянное ухудшение уже нарушенного образования андрогенов и привести к тяжелому гипогонадизму [100]. Кроме того, лабораторное исследование большого количества ткани яичек занимает много времени, при этом можно пропустить редкие сперматозоиды среди множества клеток и фрагментов ткани [37, 38].

В идеале биопсия при НОА должна давать максимальный шанс на получение достаточного количества тестикулярных сперматозоидов хорошего качества, которые можно сразу использовать или криоконсервировать для ИКСИ. Кроме того, следует минимизировать повреждение яичек для сохранения андрогенной активности и шанса на успех следующих попыток извлечения. Данными преимуществами обладает микроскопическая TESE (микро-TESE) – микрохирургический метод поиска сперматозоидов, изначально описанный P.H. Schlegel и предложенный в качестве альтернативы TESE при НОА [101]. Принцип микро-TESE – выявление областей активного сперматогенеза под микроскопом. После обработки яичек при 6–8-кратном увеличении делают большой надраз в бессосудистой области белочной оболочки для открытия паренхимы яичек. Расслаивание ткани при 15–25-кратном увеличении позволяет хирургу найти и выделить отдельные семенные каналы большего диаметра по сравнению с другими здоровыми или спавшимися каналами [42]. Извлекают только каналы большего диаметра, поскольку предполагается, что они с большей вероятностью будут содержать сперматозоиды [101].

В контролируемом исследовании с участием 60 мужчин с НОА успех биопсии был выше в группе микро-TESE в сравнении с группой обычной TESE с 1 биопсией (45% против 25%, $p=0,005$). Результаты после оценки по гистопатологическому фенотипу яичек также говорят в пользу микро-TESE (гипосперматогенез: 93% против 64%, остановка созревания (ОС): 64% против 9%, аплазия герминативных клеток (АГК): 20% против 6%, $p<0,01$) [41]. Другие исследователи также подтверждают данные результаты и отмечают снижение частоты осложнений при микро-TESE [101–106]. Оптическое увеличение уменьшает вероятность повреждения сосудов, поскольку легче сохранить их целостность, а это снижает риск гематомы и нарушения кровоснабжения яичек. После преходящего снижения уровня Т в сыворотке вследствие микро-TESE этот показатель возвращается к норме в течение 18 мес. примерно в 95% случаев, за исключением мужчин с очень маленькими яичками и тяжелой степенью нарушения андрогенной активности, например, больных КС, у которых этот эффект сохраняется [45, 106]. Недавний систематический обзор

7 сравнительных исследований с участием в совокупности 1062 пациентов подтвердил, что микро-TESE более успешна, чем обычная TESE: 42,9–63% и 16,7–45% случаев нахождения сперматозоидов соответственно [107]. Было показано, что микро-TESE позволяет «спасти» примерно 1/3 случаев неудачных попыток извлечения методом обычной TESE или чрескожной аспирации сперматозоидов из яичка (TESA), что особенно благоприятно для пациентов с НОА с более тяжелыми поражениями сперматогенеза [100, 107, 108]. После успешной процедуры микро-TESE можно провести еще раз, но не ранее чем через 3–6 мес. в связи с воспалительными изменениями тканей. Если проводить микро-TESE в течение 6 мес. после первой операции, то успех ее будет существенно ниже (25% против 80%) [100].

Гистологическая картина

Биопсия яичек позволяет не только получить сперматозоиды у больных с азооспермией, но и оценить гистологическую картину биоптата. Гистопатологический анализ биоптатов показывает следующее: гипосперматогенез; ОС половых клеток; аплазию половых клеток (АГК); склероз канальцев или сочетание этих патологий [35]. Другими словами, результаты биопсии использовали не только для подтверждения диагноза НОА, но и в некоторых случаях для предварительной оценки успеха TESE при Fresh-биопсии [7, 26].

В настоящее время диагностическую биопсию с целью одной лишь гистопатологической оценки проводить нецелесообразно, т. к. это может повлечь за собой удаление зоны очагового сперматогенеза, вызвать появление рубцовых изменений и понизить шансы на успешное извлечение сперматозоидов в будущем.

Репродуктивный потенциал мужчин с НОА и здоровье их детей

Частота беременности в циклах ИКСИ с использованием сперматозоидов мужчин с НОА ниже, чем при использовании эякулированных сперматозоидов и эпидидимальных/тестикулярных сперматозоидов мужчин с ОА. В группе НОА частота рождения живого ребенка была ниже (21,4%), чем в группах ОА (37,5%) и эякулированных сперматозоидов (32,3%) ($p=0,003$). При изучении большой когорты из 365 мужчин с НОА, прошедших микро-TESE для ИКСИ, сравнивались результаты лечения в циклах с успешным извлечением тестикулярных сперматозоидов с результатами 40 пар, которые использовали для ИКСИ донорскую сперму по причине неудачной биопсии [9]. Для сравнения в анализ также включили группу из 146 мужчин с ОА, прошедших чрескожную пункционную биопсию. Неудивительно, что при НОА успех биопсии был ниже, чем при ОА (41,4% против 100%, скорректированное ОШ 0,033, 95% ДИ 0,007–0,164; $p<0,001$). Частота рождения живых детей после инъекции сперматозоидов у мужчин с НОА была ниже (19,9%), чем у использовавших донорскую сперму (37,5%, скорректированное ОШ 0,377, 95% ДИ 0,233–0,609; $p<0,001$) и у мужчин с ОА (34,2%, скорректированное ОШ 0,403, 95% ДИ 0,241–0,676; $p=0,001$). В этом исследовании между группами не было значимых различий по частоте выкидышей и параметрам новорожденных (гестационный возраст, масса тела при рождении, частота пороков развития, перинатальная смертность).

Отрицательное влияние НОА на частоту наступления беременности было подтверждено многими исследователями. Это может быть связано с большей частотой дефектов центриолей и генетического материала сперматозоидов мужчин с НОА, что влияет на их спо-

способность вызывать развитие жизнеспособного эмбриона [110–113, 124, 125]. В отчете по оценке уровня фрагментации ДНК тестикулярных сперматозоидов (ФДС) было показано, что у сперматозоидов пациентов с НОА в среднем значимо выше степень повреждения ДНК (46,9%) по сравнению с таковой у мужчин с ОА (35,9%; $p < 0,05$). В этом исследовании авторы оценивали ФДС по тесту дисперсии хроматина сперматозоидов, было отмечено, что ФДС отрицательно влияла на морфологию эмбриона ($r = -0,163$; $p = 0,01$) [111]. В связи с небольшим размером изученной популяции требуется непрерывный мониторинг рожденных после ИКСИ детей [8, 126, 127]. Кроме того, требуется длительное контрольное наблюдение, поскольку отсутствуют физические и неврологические данные и сведения о развитии зачатых детей.

Перспективы лечения мужчин с НОА

Для случаев, в которых невозможно извлечение зрелых сперматозоидов, было предложено экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) незрелыми сперматозоидами и *in vitro* культурами этих клеток [128]. ИКСИ с использованием незрелых половых клеток, в т. ч. удлиняющихся и круглых сперматид, дало противоречивые результаты, и, несмотря на рождение здоровых детей, метод в современном его виде имеет очень низкую эффективность [129]. В некоторых странах, например в Великобритании, по этическим соображениям и из-за беспокойства о небезопасности, связанного с возможностью передачи геномных заболеваний, инъекции сперматид были запрещены [129]. Сперматозоиды человека – высокоспециализированные клетки, которые должны не только доставить в ооцит компетентную отцовскую ДНК, но и внести надежный эпигенетический вклад в эмбриогенез. Последнее требует содержания в хроматине слоев регуляторных элементов, активирующих или подавляющих экспрессию генов после попадания в ооцит [130].

Поскольку ВРТ требуют зрелых половых клеток, усилия исследователей в настоящее время сосредоточены на дифференциации незрелых половых клеток или получении сперматозоидов из соматических клеток. Биотехнология – ценный инструмент повышения фертильности при сохранении биологического отцовства. Прорыв в этой области был совершен азиатскими учеными, использовавшими стволовые клетки эмбрионов мышей для создания зачатков половых клеток, которые дифференцировались в сперматозоиды после трансплантации в яички мышей [131]. Что касается человека, то с помощью новой методики получения сперматозоидов *in vitro* из полипотентных стволовых клеток соматического происхождения были сформированы гаплоидные клетки человека [128]. Гаплоидизация – еще одна изучаемая методика создания гамет с использованием технологий биологического клонирования. Эти методы являются экспериментальными, несмотря на их возможные перспективы. Получение гамет в лаборатории – очень сложный процесс, еще не полностью освоенный у человека.

Выводы

НОА – наиболее тяжелое проявление мужского бесплодия. Несмотря на отсутствие сперматозоидов в эякуляте, примерно у 50% мужчин с НОА в яичках образуется минимальное количество сперматозоидов. Эти сперматозоиды можно извлечь и использовать для ЭКО и рождения жизнеспособного потомства. Лечение связанного с НОА бесплодия осуществляется с использо-

ванием широкого спектра методов – от генетического тестирования до гормонального контроля, микрохирургической и медикаментозной терапии, а также ВРТ. Для лечения такого бесплодия проводятся и инновационные исследования стволовых клеток с целью создания искусственных гамет. С медицинской точки зрения, лечение мужчин с НОА подразумевает несколько этапов: дифференциальную диагностику азооспермии, генетическое тестирование и консультирование, отбор пациентов, которые могут выиграть от медикаментозного и хирургического лечения (в отличие от биопсии), использование наилучшего метода для хирургического извлечения тестикулярных сперматозоидов, а также применение современных технологий ЭКО. Только координированная работа многопрофильной команды специалистов: урологов, андрологов, генетиков, репродуктивных эндокринологов и эмбриологов позволяет сделать все возможное, чтобы получить биологическое потомство у мужчин с НОА.

Литература

- Cooper T.G., Hellenkemper B., Jonckheere J., Callewaert N., Grootenhuys A.J. et al. Azoospermia: virtual reality or possible to quantify? // *J Androl.* 2006. Vol. 27. P. 483–490.
- Aziz N. The importance of semen analysis in the context of azoospermia // *Clinics (Sao Paulo).* 2013. Vol. 68. Suppl 1. P. 35–38.
- Esteves S.C., Miyaoka R., Agarwal A. An update on the clinical assessment of the infertile male. [corrected] // *Clinics (Sao Paulo).* 2011. Vol. 66. P. 691–700.
- Esteves S.C., Agarwal A. The azoospermic male: current knowledge and future perspectives // *Clinics (Sao Paulo).* 2013. Vol. 68. Suppl 1. P. 1–4.
- Silber S.J. Microsurgical TESE and the distribution of spermatogenesis in non-obstructive azoospermia // *Hum Reprod.* 2000. Vol. 15. P. 2278–2284.
- Esteves S.C., Miyaoka R., Agarwal A. Sperm retrieval techniques for assisted reproduction // *Int Braz J Urol.* 2011. Vol. 37. P. 570–583.
- Carpi A., Sabanegh E., Mechanick J. Controversies in the management of nonobstructive azoospermia // *Fertil Steril.* 2009. Vol. 91. P. 963–970.
- Belva F., De Schrijver F., Tournaye H., Devroey P. et al. Neonatal outcome of 724 children born after ICSI using non-ejaculated sperm // *Hum Reprod.* 2011. Vol. 26. P. 1752–1758.
- Esteves S.C., Prudencio C., Seol B., Verza S., Knodler C. et al. Comparison of sperm retrieval and reproductive outcome in azoospermic men with testicular failure and obstructive azoospermia treated for infertility // *Asian J Androl.* 2014. Vol. 16. P. 602–606.
- Esteves S.C., Hamada A., Kondray V., Pitchika A., Agarwal A. What every gynecologist should know about male infertility: an update // *Arch Gynecol Obstet.* 2012. Vol. 286. P. 217–229.
- Jaffe T.M., Kim E.D., Hoekstra T.H., Lipshultz L.I. Sperm pellet analysis: a technique to detect the presence of sperm in men considered to have azoospermia by routine semen analysis // *J Urol.* 1998. Vol. 159. P. 1548–1550.
- Corea M., Campagnone J., Sigman M. The diagnosis of azoospermia depends on the force of centrifugation // *Fertil Steril.* 2005. Vol. 83. P. 920–902.
- Esteves S.C. Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination // *Int Braz J Urol.* 2014. Vol. 40. P. 443–453.
- Castilla J.A., Alvarez C., Aguilar J., Gonz lez-Varea C., Gonzalvo M.C. et al. Influence of analytical and biological variation on the clinical interpretation of seminal parameters // *Hum Reprod.* 2006. Vol. 21. P. 847–851.
- Keel B.A. Within- and between-subject variation in semen parameters in infertile men and normal semen donors // *Fertil Steril.* 2006. Vol. 85. P. 128–134.
- 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. P. 197–200.
- Esteves S.C., Agarwal A. Reproductive outcomes, including neonatal data, following sperm injection in men with obstructive and nonobstructive azoospermia: case series and systematic review // *Clinics (Sao Paulo).* 2013. Vol. 68. Suppl 1. P. 141–150.
- Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in Collaboration with Society for Male Reproduction and Urology. Evaluation of the azoospermic male // *Fertil Steril.* 2008. Vol. 90. P. 74–77.
- Baker K., Sabanegh Jr.E. Obstructive azoospermia: reconstructive techniques and results // *Clinics (Sao Paulo).* 2013. Vol. 68. Suppl 1. P. 61–73.
- Esteves S.C., Lee W., Benjamin D.J., Seol B., Verza Jr. A. et al. Reproductive potential including neonatal outcomes of men with obstructive azoospermia undergoing percutaneous sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection according to the cause of obstruction // *JUrol.* 2013. Vol. 189. P. 232–237.

Полный список литературы Вы можете найти на сайте <http://www.rmj.ru>