© С.Ю.Боровец, В.А.Торопов, С.Х.Аль-Шукри, 2017 УДК 616.69-008.6-07:616.681-076:612.015

С.Ю.Боровец, В.А.Торопов, С.Х.Аль-Шукри

## •ПРЕДБИОПСИЙНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ГЕРМИНОГЕННОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ АЗООСПЕРМИИ С УЧЁТОМ ЭНДОКРИННЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ

Кафедра урологии с курсом урологии с клиникой (зав. — д-р мед. наук проф. С. Х. Аль-Шукри), ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Выявить клинические, эндокринные и генетические предикторы сохранности сперматогенного эпителия у больных с необструктивной азооспермией. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Всем 38 больным с секреторной азооспермией выполнена открытая биопсия яичка, перед которой был проведен широкий спектр инструментальных, лабораторных методов исследования. РЕЗУЛЬТАТЫ. С учетом выявленных предикторов повреждения герминогенного эпителия были созданы две модели прогнозирования его состояния. ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Возраст, концентрация фолликулостимулирующего гормона, наличие или отсутствие микроделеции AZFc являются независимыми и прогностически значимыми предикторами состояния сперматогенного эпителия.

**Ключевые слова:** азооспермия, фолликулостимулирующий гормон, AZFc, открытая биопсия яичка, возраст

S. Yu. Borovets, V.A. Toropov, S. Kh. Al'-Shukri

## Pre-biopsy modelling of condition of germinogenic epithelium in azoospermia using endocrine and genetic predictors

Department of urology with course of urology and clinic, I.P.Pavlov First St. Petersburg State Medical University OBJECTIVE. The study revealed clinical, endocrine and genetical predictors of safety of spermatogenic epithelium in patients with nonobstructive azoospermia. MATERIAL AND METHODS. The open testicular biopsy was performed in 38 patients with secretory azoospermia. The wide range of instrumental, laboratory studies were conducted before biopsy. RESULTS. Two prognostic models were developed by taking into account the revealed predictors of damage of germinogenic epithelium. CONCLUSIONS. The age, concentration of follicle-stimulating hormone, presence or absence of microdeletion AZFc are independent prognostic predictors of germinal epithelium condition.

Key words: azoospermia, follicle-stimulating hormone, AZFc, open testicular biopsy, age

Введение. Азооспермия указывает на серьезные нарушения функционирования тканей яичек (гландулоцитов, сустентоцитов), которые приводят к угнетению процессов сперматогенеза [6]. Выделяют обструктивную (ОА) и необструктивную (НОА) азооспермию. НОА встречается чаще (почти в 60% случаев). Гипогонадизм (гипери гипогонадотропный) может сопровождаться НОА [1]. ОА является вторичной по отношению к обструкции мужского репродуктивного тракта и диагностируется с помощью комбинации анамнеза, физикального, лабораторного, генетического обследования (повреждение CFTR при врожденной ОА). НОА отличается от ОА клинической оценкой (консистенция и объём) яичек, лабораторными (содержание фолликулостиму-

лирующего гормона — ФСГ) и генетическими анализами (кариотип, микроделеции AZF или специфическое генетическое тестирование гипогонадотропного гипогонадизма). ОА лечат микрохирургической реконструкцией с использованием вазовазостомии или вазоэпидидимостомии. Микрохирургическая аспирация эпидидимальной спермы с оплодотворением in vitro или интрацитоплазматическая инъекция спермы (ЭКО/ИКСИ) используется при невозможности восстановления репродуктивного тракта. Лечение НОА включает в себя коррекцию врожденного гипогонадотропного гипогонадизма и экстракцию сперматозоидов из яичка для ЭКО/ИКСИ для соответствующих кандидатов, отобранных на основе лабораторного или генетического исследования [10].

Распространённость азооспермии в популяции всех мужчин составляет около 1%, а среди мужчин, страдающих бесплодием,— 10–15% [2, 3]. Биопсия яичка показана всем больным с азооспермией для обнаружения сперматозоидов, так же как и для последующего гистопатоморфологического исследования биоптатов. Однако ещё до биопсии важно прогнозировать сохранность сперматогенного эпителия для планирования процедур вспомогательных репродуктивных технологий и определения целесообразности стимуляции сперматогенеза.

Материал и методы. Проанализированы результаты открытой биопсии яичка (TESE) у 38 больных с азооспермией в возрасте от 20 до 55 лет, в среднем (35,2±6,4) года. До операции определяли содержание в плазме крови лютеинизирующего (ЛГ), фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов, общего тестостерона (Т), пролактина (Prl) и эстрадиола (Е) (реактивы — наборы «Алкор-Био»). Нормативными считали показатели гормонов в плазме крови для мужчин: ФСГ — 1,1–11,8 МЕ/л; ЛГ — 0,8–8,4 МЕ/л; Т — 12,0–38,3 нмоль/л; Prl — 105–540 мМЕ/л, Е — 7,6–42,6 нг/л.

Определяли кариотип по результатам исследования ФГА-стимулированных лимфатических узлов периферической крови на метафазных пластинках (QFH-окрашивание). Определяли наличие или отсутствие микроделеций AZFa,b,c длинного плеча хромосомы Y путём интерпретации электрофореграммы ПЦР-продуктов мультикомплекса последовательностей локуса AZF.

Всем больным выполняли TESE с последующим исследованием суспензии ткани яичка (ув. 40) и гистопатоморфологическим исследованием биоптатов (окраска гематоксилином и эозином, ув. 40). Методика TESE: производили поперечный разрез кожи мошонки длиной 2 см, разрез мясистой и влагалищной оболочек яичка; интрапаренхиматозно вводили 1 мл 1% растовора лидокаина в место предполагаемого разреза белочной оболочки яичка для облегчения получения ткани. После этого производили разрез белочной оболочки длиной 1 см, затем аккуратно надавливали на яичко для экструзии фрагмента его паренхимы, после чего его отсекали острыми ножницами; 2–3 фрагмента ткани яичка отправляли на интраоперационное цитологическое исследование суспензии тестикулярной ткани для обнаружения сперматозоидов. Рану белочной оболочки зашивали непрерывным двухрядным швом с использованием викрила нитью толщиной 4/0.

Критерии исключения из исследования: экскреторная азооспермия, варикоцеле (II стадии и выше), острые воспалительные заболевания мочеполовых органов, диабет (1-го и 2-го типов), инфекционный паротит в анамнезе, гиперпролактинемия, тяжёлые соматические заболевания, использование гормонов, цитостатиков, антибиотиков.

Использовали метод дискриминантного анализа для математического моделирования гистологической картины состояния герминогенного эпителия.

**Результаты.** Неповреждённый сперматогенный эпителий был обнаружен у 28 (73,7%) из 38 больных, а у 10 (26,3%) из 38— наблюдали его выраженную дистрофию или атрофию. Ни у одного из больных не было определено нарушений при проведении кариотипирования (у всех больных кариотип был 46ХҮ). У 1 (2,6%) из 38 больных диагностировали микроделецию хромосомы Y в локусе AZFc, тогда как микроделеции AZFa или AZFb отсутствовали.

С помощью дискриминантного анализа была получена формула (формула 1), позволяющая с учетом возраста больного с НОА, концентрации ФСГ в плазме крови и наличия или отсутствия микроделеции AZFc прогнозировать состояние сперматогенного эпителия, причем ещё до TESE:

 $f = 0.036 \times age + 0.086 \times fsh - 2.416 \times azfc - 0.068$ , (1)

где: f — значение дискриминантной функции; age — возраст больного (лет); fsh — концентрация  $\Phi$ C $\Gamma$  в плазме крови (ME/ $\pi$ ); f аzfc — наличие микроделеции AZFc длинного плеча хромосомы f (f — нет, f — есть).

Если в результате подстановки значений age, fsh, azfc в формулу  $f \ge 0.326$ , то велик риск атрофии или дистрофии сперматогенного эпителия при гистологическом исследовании биоптатов яичка после TESE. Канонический коэффициент корреляции статистически значимый (p<0,05). Чувствительность предлагаемой формулы к отсутствию сперматогенного эпителия составляет 60.0%, специфичность — 82.1%, точность — 76.3%.

Кроме того, была создана дискриминантная функция (формула 2), позволяющая прогнозировать состояние сперматогенного эпителия у больных с НОА, на основании лишь сведений о концентрации ФСГ в плазме крови:

$$f = fsh \times 0,101 - 1,325.$$
 (2)

Если  $f \ge 0,297$ , то велик риск повреждения или отсутствия сперматогенного эпителия при последующем гистологическом исследовании. Канонический коэффициент корреляции невысокий: 0,494. По Уилксу,  $\lambda = 0,756$  (p < 0,05). Чувствительность в отношении предсказания атрофии или гипотрофии сперматогенного эпителия составляет 60,0%, специфичность — 78,6%, суммарная точность предсказаний — 73,7%.

Данной дискриминантной функцией необходимо воспользоваться при невозможности выполнить дорогостоящие генетические исследования.

Обсуждение. Итогом нашего исследования явилось получение с использованием дискриминантного анализа двух формул, которые позволяют с высокой вероятностью предопределять состояние сперматогенного эпи-

телия у больных с НОА ещё до TESE. Наиболее важными предикторами предбиопсийных повреждений тканей яичка являются концентрация ФСГ в плазме крови, возраст больного и наличие или отсутствие микроделеции AZFc. При этом ФСГ — главный прогностический фактор не только состояния сперматогенного эпителия, но и наличия сперматозоидов в биоптатах яичка.

данным P.K.Iliadou и соавт. предикторами важными ности сперматогенного эпителия являются ингибин В и антимюллеровский гормон. Их концентрация в плазме крови коррелирует с результатами гистологического или цитологического исследования тканей яичек, но при этом не превосходит предсказательной значимости ФСГ как ведущего предиктора наличия сперматозоидов при аспирационной тонкоигольной биопсии яичек у мужчин с НОА, так же как и при получении сперматозоидов с помощью открытой или тонкоигольной биопсии яичка. Аналогичные результаты были получены и другими исследователями, которые выявляли корреляцию между концентрацией ингибина В и сперматогенной активностью; полученные ими результаты были подтверждены данными гистологических исследований биоптатов яичка [5, 7]. Повышенная концентрация ФСГ у больных с НОА связана с низкой вероятностью обнаружения сперматозоидов при TESE [4].

Однако существует и другая точка зрения на то, что изолированная оценка концентрации ингибина В, так же как и с учетом концентрации ФСГ в плазме крови, не позволяет достоверно предсказывать результат TESE у пациентов с НОА [9].

Таким образом, по мнению большинства исследователей, ведущим предбиопсийным предиктором сохранности сперматогенного эпителия является ФСГ; концентрация его в плазме крови обратно пропорциональна нарушениям сперматогенеза. Аналогичные результаты были получены в итоге нашего исследования.

Несмотря на то, что повышенная концентрация ФСГ в плазме крови указывает на выраженные нарушения сперматогенеза, нельзя полностью исключить наличие изолированных участков ткани яичек, в которых сперматогенез может быть сохранен. Кроме того, концентрация ФСГ в плазме крови не всегда коррелирует со стадией дифференцировки сперматозоидов, а зависимость между концентрацией ФСГ в плазме крови и наличием сохранившегося сперматогенеза у мужчин с НОА, включая пациентов с синдромом Клайнфельтера,

не является линейной [5, 7]. Это ещё раз указывает на необходимость биопсии у всех больных с НОА, поскольку ни у кого из них нельзя исключить локальную сохранность сперматогенного эпителия и возможность обнаружения сперматозоидов.

Однако мы не встретили работ, посвященных предбиопсийному математическому прогнозированию сохранности сперматогенного эпителия. Использование дискриминантного анализа в нашем исследовании помогло решить эту задачу путём комплексной оценки совокупности клиникоэндокринных и генетических предикторов нарушений сперматогенеза. При этом созданные нами математические модели позволяют с высокой вероятностью (76%), прогнозировать повреждения сперматогенного эпителия и предопределять исходы биопсии яичка, что важно учитывать для планировании процедур ЭКО/ИКСИ.

**Выводы.** 1. Возраст, концентрация ФСГ, наличие или отсутствие микроделеции AZFc являются независимыми и прогностически значимыми предикторами состояния сперматогенного эпителия.

- 2. Предсказательная точность предлагаемых методов математического моделирования морфологического состояния герминогенного эпителия у больных с азооспермией достигает 76,3%.
- 3. При отсутствии данных генетических исследований повреждения сперматогенного эпителия у больных с НОА возможно прогнозировать по концентрации ФСГ в плазме крови.

## ЛИТЕРАТУРА [REFERENCE]

- 1. Витязева И.И. Современные подходы к лечению азооспермии методом микро-ТЕСЕ в программе ЭКО/ИКСИ: Обзор. Ч. II // Проблемы эндокринологии. 2013. Т. 59, № 5. С. 47–60 [Vityazeva I.I. Sovremennye podkhody k lecheniyu azoospermii metodom mikro-TESE v programme EKO/IKSI. Obzo . Ch. II // Problemy endokrinologii. 2013. Vol. 59, № 5. P. 47–60].
- 2. Гамидов С.И., Попова А.Ю., Овчинников Р.И. Необструктивная азооспермия клинические рекомендации // Русский медицинский журнал. 2015. № 11. С. 595–601 [Gamidov S.I., Popova A.Yu., Ovchinnikov R.I. Neobstruktivnaya azoospermiya klinicheskie rekomendatsii // Russkii meditsinskii zhurnal. 2015. № 11. Р. 595–601].
- 3. Aziz N. The importance of semen analysis in the context of azo-ospermia // Clinics (Sao Paulo). 2013. Vol. 68, № 1. P. 35–38.
- Bromage S. J., Falconer D.A., Lieberman B.A. et al. Sperm retrieval rates in subgroups of primary azoospermic males // Eur. Urol. 2007. Vol. 51. P. 534–539.
- 5. von Eckardstein S., Simoni M., Bergmann M. et al. Serum inhibin B in combination with serum follicle-stimulating hormone (FSH) is a more sensitive marker than serum FSH alone for impaired spermatogenesis in men, but cannot predict the presence of sperm

- in testicular tissue samples  $/\!/$  J. Clin. Endocrinol. Metab. 1999. Vol. 84. P. 2496–2501.
- Esteves S.C., Agarwai A. The azoospermic male: current knowledge and future perspectives // Clinics (Sao Paulo). 2013. Vol. 68, № 1. P. 1–4.
- 7. Foresta C., Bettella A., Petraglia F. et al. Inhibin B levels in azoospermic subjects with cytologically characterized testicular pathology // Clin. Endocrinol. (Oxf). 1999. Vol. 50. P. 695–701.
- 8. Iliadou P.K., Tsametis C., Kaprara A., Papadimas I., Goulis D.G. The Sertoli cell: novel clinical potentiality // Hormones (Athens). 2015. Vol. 14, № 4. P. 504–514.
- 9. Tomomoto Ishikawa. Surgical recovery of sperm in non-obstructive azoospermia // Asian J. Androl 2012. Vol. 14, № 1. P. 109–115.
- 10. Wosnitzer M., Goldstein M., Hardy M.P. Review of azoospermia // Spermatogenesis 2014. № 4. P. 1–7.

Поступила в редакцию 31.05.2017 г.

## Сведения об авторах:

Боровец Сергей Юрьевич (e-mail: sborovets@mail.ru), д-р мед. наук, проф. кафедры; Торопов Виктор Александрович (e-mail: toropov-1990@mail.ru), аспирант кафедры; Аль-Шукри Сальман Хасунович (e-mail: urolog.kaf@mail.ru), д-р мед. наук, проф., засл. врач РФ, главный уролог Северо-Западного региона России, зав. кафедра урологии с курсом урологии с клиникой; Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, 6–8.