

Стимуляция сперматогенеза у мужчин комбинированной терапией фолликулостимулирующим гормоном и хорионическим гонадотропином при патозооспермии и бесплодии в случаях неэффективности монотерапии хорионическим гонадотропином или антиэстрогеном

Н.С. Кравцова, Р.В. Роживанов, Д.Г. Курбатов

ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России; Россия, 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, 11

Контакты: Роман Викторович Роживанов rrozhivanov@mail.ru

Часто возникает необходимость применения методов лечения, направленных на увеличение количества сперматозоидов в эякуляте. В исследовании оценивали эффективность комбинированной терапии препаратом фолликулостимулирующего гормона и хорионическим гонадотропином в случаях неэффективности монотерапии хорионическим гонадотропином и антиэстрогенами. Эффективность лечения в отношении олиготератозооспермии составила 65 %. Положительные изменения морфологии сперматозоидов включали улучшение конденсации хроматина и уменьшение деградировавших форм. При этом лечение являлось безопасным и не приводило к развитию побочных эффектов.

Ключевые слова: бесплодие, сперматогенез, гонадотропин

DOI: 10.17650/2070-9781-2016-17-2-29-33

Stimulation of spermatogenesis by combined therapy with follicle-stimulating hormone and chorionic gonadotropin for azoospermia and infertility in cases of previous ineffective monotherapy with chorionic gonadotropin and antiestrogen

N.S. Kravtsova, R.V. Rozhivanov, D.G. Kurbatov

Endocrinology Research Center, Ministry of Health of Russia; 11 Dmitriya Ulyanova St., Moscow, 117036, Russia

Often there is a need of application of the methods of treatment, directed on increase in quantity of spermatozoa in an ejaculate. In the research efficiency of the combined therapy by preparation follicle-stimulating hormone was estimated and a chorionic gonadotrophin in cases of the previous inefficiency monotherapy a chorionic gonadotrophin and an anti-estrogen. The efficiency of treatment concerning an oligoteratozoospermiya made 65 %. Positive changes of morphology of spermatozoa included improvement of condensation of a chromatin and decrease of the degrading forms. At the same time this treatment was safe and didn't lead to development of side effects.

Key words: infertility, spermatogenesis, gonadotrophin

Введение

В течение последних 50 лет концентрация сперматозоидов в эякуляте здоровых мужчин, проживающих в технологически развитых странах, постоянно снижается. При этом в большинстве случаев мужское бесплодие связано с уменьшением количества и снижением качества сперматозоидов [1]. В связи с этим возник вопрос о необходимости применения методов лечения, направленных на увеличение количества сперматозоидов в эякуляте, в том числе гормональной стимулирующей терапии. Наиболее дешевым видом лечения является использование хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) и антиэстрогенов. При

этом в ряде случаев терапия данными препаратами неэффективна, в связи с чем требуется применение более дорогостоящего лечения препаратами фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в комбинации с ХГЧ [2].

Цель исследования — оценка эффективности комбинированной терапии препаратами ФСГ и ХГЧ у пациентов с патозооспермией и бесплодием в случаях неэффективности монотерапии ХГЧ и антиэстрогенами.

Материалы и методы

В проспективное исследование были включены 17 бесплодных мужчин с олигоастенотератозооспер-

мией, которые получали лечение монотерапией ХГЧ или антиэстрогеном кломифена цитратом с отсутствием эффекта. Критериями исключения являлись наличие в анамнезе травм или хирургических вмешательств на половых органах, криптозооспермия, азооспермия, любые формы обструктивного бесплодия, гипергонадотропный гипогонадизм, гипотиреоз, гиперпролактинемия, гиперкортицизм, нарушения кариотипа, делеции AZF, опухоли яичек, опухоли гипофиза, варикоцеле, урогенитальные инфекции, воспалительные заболевания половых желез, бактериоспермия, лейкоспермия, носительство антиспермальных антител. Исходные данные пациентов представлены в табл. 1.

Таблица 1. Исходные данные пациентов до и после комбинированной терапии гонадотропинами (Me, 25 %; 75 %)

Параметр	До терапии (n = 17)	После терапии (n = 17)	P
Возраст, лет	29 [24; 32]	29 [24; 32]	1,0
ИМТ, кг/м ²	26,4 [24,1; 28,1]	26,4 [23,9; 28,2]	1,0
Объем яичек, мл	16 [9; 17]	16 [9; 17]	1,0
Тестостерон, нмоль/л	24,6 [23,9; 6,3]	24,7 [24,0; 27,1]	0,13
Ингибин В, пг/мл	97 [47; 61]	109 [56; 175]	0,003
Количество сперматозоидов, млн/мл	14 [8; 16]	16 [12; 19]	0,003
Подвижность А + В, %	17 [14; 22]	16 [14; 22]	0,31
Морфологически нормальные формы, %	2 [0; 3]	4 [1; 5]	0,011

Примечание. ИМТ – индекс массы тела.

Пациентам была назначена комбинированная терапия ХГЧ (Московский эндокринный завод, Россия) в индивидуально подобранной дозе (1000–3000 ЕД 1 раз в 3 дня внутримышечно) и рекомбинантным препаратом ФСГ – фоллитропин альфа (Гонал-Ф, «Мерк Сероно», Швейцария) – в дозе 75 ЕД подкожно через 1 день. Дозу ХГЧ определяли путем оценки уровня общего тестостерона утром натощак после инъекции препарата (целевое значение 20–33 нмоль/л).

Для оценки объема яичек проводили ультразвуковое исследование на аппарате Aloka ProSound SSD-α-10 с использованием линейного датчика с частотой 10 МГц. При лабораторном обследовании состояния половых желез оценивали концентрацию общего тестостерона и ингибина В в 3 аликвотах сыворотки крови. Уровни тестостерона (норма 12,0–33,3 нмоль/л) определяли на автоматическом анализаторе Vitros ECi (Johnson & Johnson, Великобритания) методом усиленной хемилуминесценции, а уровни ингибина В (норма 25–325 пг/мл) –

методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы DSL (США). Кровь для исследования забирали в пробирки типа «вакутейнер» утром натощак из локтевой вены.

Оценку спермограмм осуществляли по критериям в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения (2010) путем световой микроскопии с помощью микроскопа Olimpus 41 CX (Япония) и камеры Маклера того же производителя [1], метод окраски мазков сперматозоидов – по Папаниколау. С учетом того, что на параметры спермограммы может влиять множество различных факторов, ее анализировали двукратно (ориентировались на лучший результат) и оценивали наиболее «стабильные» показатели: количество сперматозоидов в 1 мл эякулята (норма > 15 млн), количество морфологически нормальных форм (норма > 4 %), подвижность А + В (норма > 40 %). Кроме того, проводили электронно-микроскопическое исследование эякулята сперматозоидов (ЭМИС): эякулят после разжижения фиксировали 2,5 % раствором глутарового альдегида на 0,1 М какодилатном буфере (рН 7,2–7,4) и 1 % раствором осмиевой кислоты и заливали в эпоксидную смолу. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме Reichert III и просматривали в электронном микроскопе Hitachi 700 [3]. Оценивали число интактных головок (норма > 4 %), содержание сперматозоидов с недостаточно конденсированным хроматином (норма < 30 %), содержание многоядерных сперматозоидов (норма < 5 %), содержание сперматозоидов с патологией акросомы (норма < 20 %), жгутика (норма < 30 %), деградировавших сперматозоидов. Забор эякулятата осуществляли в стерильные контейнеры путем мастурбации (половое воздержание 3–5 сут).

Эффективность лечения оценивали через 3 мес стимулирующей терапии. Под эффективностью понимали наличие зачатия и/или устранение олиготератозооспермии.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica версии 8.0 (StatSoft Inc., США). Сравнение по количественным признакам осуществляли непараметрическим методом с помощью критерия Вилкоксона для зависимых групп. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты обследования пациентов после комбинированной терапии гонадотропинами представлены в табл. 1.

Комбинированное лечение препаратами ФСГ и ХГЧ, назначенное после предшествующей неэффективной монотерапии ХГЧ или кломифена цитрата, привело к статистически значимому увеличению уровня ингибина В и числа сперматозоидов в 1 мл эякулята, а также

к улучшению их морфологии. На подвижность сперматозоидов лечение не повлияло. Было отмечено устранение олиготератозооспермии у 11 (65 %) пациентов, 5 (62,5 % всех ранее получавших кломифена цитрат) из них ранее получали кломифена цитрат и 6 (67 % всех, ранее получавших монотерапию ХГЧ) – монотерапию ХГЧ. Из этих пациентов у 3 ранее получавших кломифена цитрат и 3 получавших монотерапию ХГЧ имелись дети. При этом от 2 мужчин, ранее получавших монотерапию ХГЧ, и от 1 больного, получавшего кломифена цитрат, с устраненной олиготератозооспермией наступило зачатие. Во всех случаях беременность окончилась естественными родами здоровых детей женского пола. В анамнезе у 2 из этих пациентов имелись здоровые дети мужского и женского пола от других партнерш. Всем пациентам, от которых зачатие не наступило, было рекомендовано использование вспомогательных репродуктивных технологий. Побочных эффектов при стимулирующей терапии не отмечено.

Другие исследователи, использовавшие комбинированную терапию ХГЧ и ФСГ для стимуляции сперматогенеза, также показали хорошие результаты. Так, М.А. Amirzargar и соавт. показали, что комбинированная терапия препаратами ХГЧ в сочетании с ФСГ демонстрирует большую частоту наступления беременности – 57 % по сравнению с монотерапией ХГЧ – 32 % [4]. К подобному выводу пришли и А.А. Sinisi и соавт., в исследовании которых было установлено, что использование низких доз рекомбинантного ФСГ у пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом, получающих монотерапию ХГЧ, способствует лучшей индукции сперматогенеза [5].

В целях изучения деталей морфологии сперматозоидов были проанализированы результаты ЭМИС до и после лечения. Проведенная терапия статистически значительно увеличила число интактных головок сперматозоидов, улучшила качество хроматина при тенденции к уменьшению числа деградировавших сперматозоидов (табл. 2). Количество сперматозоидов с неконденсированным хроматином после лечения снизилось у 14 (82 %) пациентов, в целом по группе различия являлись статистически значимыми. У этих 14 пациентов наблюдали увеличение концентрации и улучшение морфологии сперматозоидов. Пациенты с наступившим зачатием также демонстрировали улучшение показателей ЭМИС. К сожалению, выявить специфические факторы и определить группу пациентов, которым показан описанный метод терапии, не представляется возможным из-за малочисленности выборки. Тем не менее нарушение конденсации хроматина в сперматозоидах как следствие

Таблица 2. Результаты ЭМИС пациентов в динамике (Me, 25 %; 75 %)

Параметр	До лечения (n = 17)	После терапии (n = 17)	p
Интактные головки, %	1 [0; 2]	4 [1; 5]	0,008
Неконденсированный хроматин, %	49 [45; 73]	46 [31; 62]	0,004
Многоядерные сперматозоиды, %	9 [7; 9]	8 [7; 9]	0,15
Патология акросомы, %	29 [26; 32]	28 [25; 33]	0,48
Деградировавшие сперматозоиды, %	9 [6; 11]	8 [6; 10]	0,06
Патология жгутика, %	29 [26; 32]	30 [24; 36]	0,92

нарушенной протаминизации само по себе является причиной бесплодия и прогностическим критерием эффективности описываемой терапии. Это подтверждается и другими исследователями [6].

Положительные изменения морфологии сперматозоидов на фоне лечения обусловлены эффектами рекомбинантного ФСГ, что доказано в настоящей работе, а также зарубежными исследователями. Так, в рандомизированном контролируемом исследовании, проведенном N. Colasurci и соавт., включившем 109 мужчин с олигоастенотератозооспермией, была установлена эффективность препаратов ФСГ не только в отношении улучшения качества ДНК, но и морфологии сперматозоидов в целом [7]. Сходные результаты получены О. Efesoу и соавт., продемонстрировавшими, что терапия с использованием ФСГ может быть эффективно применена для улучшения параметров спермы у бесплодных мужчин. Такое лечение может повлиять как на улучшение качества сперматозоидов в эякуляте, так и на увеличение количества успешных интрацитоплазматических инъекций сперматозоида у бесплодных мужчин с нарушением созревания сперматозоидов [8].

Выводы

Комбинированная терапия гонадотропинами (ХГЧ в сочетании с рекомбинантным ФСГ) может быть с успехом использована в случаях неэффективного лечения другими видами стимулирующей терапии, при этом наряду с увеличением общего числа сперматозоидов отмечаются позитивные изменения их морфологии: улучшение конденсации хроматина и уменьшение деградировавших форм сперматозоидов. Кроме того, такое лечение является безопасным и не приводит к развитию побочных эффектов.



Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen. 5th edn. WHO, 2010.
2. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы. Под ред. Э. Нишлага, Г.М. Бере. М., 2005. 554 с. [Andrology. Man's health and reproductive system dysfunction. By eds.: E. Nishlag, G.M. Bere. Moscow, 2005. 554 p. (In Russ.)].
3. Хаят Ш., Брагина Е.Е., Курило Л.Ф. Ультроструктурное исследование сперматозоидов у пациентов с астенозооспермией. Андрология и генитальная хирургия 2012;(4):54–61. [Hayat Sh., Bragina E.E., Kurilo L.F. Ultrastructural study of semen in patients with asthenozoospermia. Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery 2012;(4):54–61. (In Russ.)].
4. Amirzargar M.A., Yavangi M., Basiri A. et al. Comparison of recombinant human follicle stimulating hormone (rhFSH), human chorionic gonadotropin (HCG) and human menopausal gonadotropin (HMG) on semen parameters after varicocelelectomy: a randomized clinical trial. Iran J Reprod Med 2012;10(5):441–52.
5. Sinisi A.A., Esposito D., Bellastella G. et al. Efficacy of recombinant human follicle stimulating hormone at low doses in inducing spermatogenesis and fertility in hypogonadotropic hypogonadism. J Endocrinol Invest 2010;33(9):618–23.
6. Брагина Е.Е., Бочарова Е.Н. Количественное электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов при диагностике мужского бесплодия. Андрология и генитальная хирургия 2014;(1):54–63. [Bragina E.E., Bocharova E.N. Quantitative electron microscopical study of sperm at diagnostics of male infertility. Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery 2014;(1):54–63. (In Russ.)].
7. Colacurci N., Monti M.G., Fornaro F. et al. Recombinant human FSH reduces sperm DNA fragmentation in men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. J Androl 2012;33(4):588–93.
8. Efesoy O., Cayan S., Akbay E. The efficacy of recombinant human folliclestimulating hormone in the treatment of various types of male-factor infertility at a single university hospital. J Androl 2009;30(6):679–84.