Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Санкт-Петербургский государственный университет»

Направление «Медицина»

Кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии

Допускается к защите

Заведующая кафедрой

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_д.м.н. профессор Д.А.Ниаури

(Подпись)

« »\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2019 г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

НА ТЕМУ:

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОГРАММ ЭКО+ИКСИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО ПРОВЕДЕНИЯ СТИМУЛЯЦИИ СПЕРМАТОГЕНЕЗА

Выполнила студентка

13.С07-м (607) группы

Гусейнова Нигар Расим кызы

Научный руководитель

д.м.н. профессор Гзгзян Александр Мкртичевич

Санкт-Петербург

2019

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

Список сокращений………………………………………………………………3

Введение……………………………………………………………………..........4

Глава 1.Обзор литературных источников……………………………………….7

1.1 Сперматогенез - сложный биологический процесс…………………......7

1.2 Диагностика и принципы терапии нарушений сперматогенеза……....14

Глава 2. Дизайн исследования ………..…………………………………….......22

2.1 Материалы исследования ……………………………………………….22

2.2 Методы исследования …………………………………………………...23

2.3 Статистическая обработка…………………...…………………………..23

Глава 3. Результаты исследования и их обсуждение………………………….25

3.1 Общая характеристика исследуемых мужчин ………………………….25

3.2 Клиническая эффективность проведения программ ВРТ ……............ 42

3.3 Эмбриологические параметры протоколов ЭКО/ИКСИ…………….....43

3.4 Частота генетических нарушений……………………………………….44

Заключение……………………………………………………………………….45

Выводы…………………………………………………………………………...46

Список использованной литературы………………………………..………….47

Приложения……………………………………………………………………..56

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АФК – активная форма кислорода

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ВРТ - вспомогательные репродуктивные технологии

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов

ИМТ – индекс массы тела

ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов

ЛГ – лютеинизирующий гормон

ТЕЗА – традиционная экстракция спермы яичек

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

ХБП – хронический бактериальный простатит

ХГЧ – Хорионический гонадотропин человека

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

**ВВЕДЕНИЕ**

**Актуальность темы**

Бесплодие - это заболевание репродуктивной системы, определяемое неспособностью достичь клинической беременности после 12 и более месяцев регулярного незащищенного полового акта. [1].

Исследования Всемирной Организации Здравоохранения показали, что в 20% случаев бесплодия была обусловлена мужским фактором, в 27% имел место сочетанный фактор, таким образом, мужской фактор присутствует примерно в 50% случаев бесплодия. [2,3]

Почти 30 миллионов мужчин во всем мире бесплодны, при этом самые большие ниши мужского бесплодия встречаются в Центральной и Восточной Европе [8-12%] и Австралии [8-9%] [4]. Однако определить истинную распространенность мужского бесплодия по-прежнему не представляется возможным, поскольку большинство оценок основывается на супружеских парах, использующих вспомогательные репродуктивные технологии, что может недооценивать эту проблему. Мужчины реже обращаются за медицинской помощью, чем женщины, будь то по социальным причинам или культурных норм, что ограничивает возможности для обучения пациентов об этиологии, диагностике и лечении мужского бесплодия. [5-7]

В настоящее время известны генетические факторы мужского бесплодия - около 15%, наиболее частая молекулярно-генетическая причина связана с Y-хромосомой и касается делеций AZF. Распространенность микроделеций Y-хромосом составляет около 7% среди пациентов с выраженными нарушениями сперматогенеза. Y-хромосома является основной мишенью при исследовании мужского бесплодия, потому что содержит гены, имеющие решающее значение в сперматогенезе и развитии мужских половых желез. Определение точной причины бесплодия, ассоциированного с Y-хромосомой тяжело, так как затрагивается изменение генетического полиморфизма, от точечных мутаций до протяженных делеций, зачастую затрагивающих область нескольких генов. Большая часть генов длинного плеча Y-хромосомы человека вовлечена в контроль созревание мужских половых клеток, поэтому утрата эухроматина Yq11.2 часто приводит к нарушению сперматогенеза и мужскому бесплодию, сопряженного с тяжелыми формами патозооспермии, такие как азооспермия и олигоспермия. Локус AZF содержит три неперекрывающихся между собой субрегиона: AZFa, AZFb, AZFc. Для каждого из них выявлены гены-кандидаты, участвующие в контроле сперматогенеза, а также их Х-сцепленные и/или аутосомные гомологи.

Открытие и распространение технологии ИКСИ с 1992 года позволило максимально повысить эффективность преодоления мужского фактора бесплодия. ИКСИ в настоящее время является наиболее часто используемой вспомогательной репродуктивной технологией, на долю которой приходится до 60-70 % выполняемых циклов.

На сегодняшний день. благодаря использованию технологии ИКСИ родилось более чем два миллиона детей во всем мире. [8,9,10]. В то же время, существует обоснованное мнение и накапливается соответствующий клинический опыт о драматичном снижении качества эмбрионов, полученных при оплодотворения методом ИКСИ с использованием сперматозоидов с тяжелыми формами тератозооспермии.

**ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Целью нашего исследования было оценить результаты программ ЭКО+ИКСИ в зависимости от предварительного проведения стимуляции сперматогенеза.

Для выполнения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести сравнительный и многофакторный статистический анализы клинико – анамнестических данных.

2. Определить клиническую эффективность проведения программ ВРТ (ЭКО+ИКСИ) в зависимости от проведения стимуляции сперматогенеза.

3. Определить эмбриологические параметры протоколов ЭКО/ИКСИ в зависимости от проведения стимуляции сперматогенеза.

4. Определить частоту генетических нарушений у пациентов с мужским фактором бесплодия.

**ГЛАВА 1**

**ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ**

**1.1 Сперматогенез - сложный биологический процесс**

Человеческий сперматогенез - сложный биологический процесс, который начинается с митотического деления сперматогонии, чтобы дать начало первичным сперматоцитам, которые в свою очередь проходят первое мейотическое деление, чтобы сформировать вторичные сперматоциты. После второго цикла мейоза эти вторичные сперматоциты производят гаплоидные клетки, называемые круглыми сперматозоидами, которые впоследствии образуют удлиненные сперматозоиды, которые в конечном итоге дифференцируются в зрелые сперматозоиды. Сперматогенный процесс зависит от согласованного действия различных гормонов, местных секреторных факторов и генов, специфичных для яичек. Дефекты на любом из этих уровней могут привести к накоплению ошибок, приводящих к нарушению сперматогенеза, следовательно и к мужскому бесплодию. [11]

Мужское бесплодие — неспособность организма мужчины вырабатывать или доставлять в организм женщины достаточное количество здоровых сперматозоидов для осуществления зачатия.Другое определение этого понятия:

Мужское бесплодие - патологические изменения в показателях спермограммы или в дополнительных анализах эякулята в сочетании с невозможностью зачатия в браке в течение 12 месяцев и более при условии репродуктивного здоровья супруги (изолированный мужской фактор).

Истинная распространенность мужского бесплодия и, следовательно, истинная потребность в медицинских услугах для мужского бесплодия остается неизвестной. Нет национального реестра, который систематически и конкретно собирает информацию о репродуктивном здоровье мужчин. Хотя данные, относящиеся к мужскому бесплодию, существуют в различных источниках, они часто ограничены в деталях и применимости. [12]

Существуют некоторые факторы внешней среды, играющие доказанно негативную роль в формировании нарушений сперматогенеза.*Курение*

Курение сигарет является известным потенциальным фактором риска снижения мужской фертильности. Курение связано с лейкоцитоспермией, основным эндогенным источником активных форм кислорода (АФК). Кроме того, табачный дым содержит АФК на уровнях, которые могут подавлять эндогенную антиоксидантную защиту. Повышенный уровень АФК в семенной жидкости у курильщиков подвергает сперматозоиды окислительному стрессу, что приводит к нарушению функции сперматозоидов и в конечном итоге к снижению мужской фертильности. Однако механизмы, лежащие в основе воздействия курения на качество спермы, до конца не выяснены. [13]

*Алкоголь*

Действие алкоголя на мужскую репродуктивную систему, по–видимому, происходит на всех уровнях гипоталамо–гипофизарно-гонадной системы. Алкоголь препятствует продукцией ФСГ, ЛГ, и тестостерона, также ухудшает функции клеток Лейдига и Сертоли. В результате может быть нарушена продукция, морфологическое развитие и созревание сперматозоидов. Сперматогенез, по-видимому, постепенно снижается с увеличением уровня потребления алкоголя [14,15].

Установлено, что хронический прием алкоголя оказывает негативное влияние как на качество спермы, так и на уровень мужских репродуктивных гормонов. Было показано, что хроническое употребление этанола снижает активность антиоксидантных ферментов в яичках, что приводит к усилению окислительного стресса, который может нарушать синтез тестостерона и нарушать фертильность. [16,17]

*Наркотические средства*

Марихуана, кокаин, анаболические и андрогенные стероиды, опиаты и метамфетамин - примеры незаконных лекарств, которые оказывают отрицательное влияние на мужскую фертильнось.

Каннабис или обычно называемый марихуаной, является наиболее злоупотребляемым незаконным наркотиком во всем мире и преимущественно среди мужчин. Установлено, что регулярное курение марихуаны (более одного раза в неделю в течение последних 3 месяцев) снижает концентрацию сперматозоидов и общее количество сперматозоидов среди молодых мужчин, и этот эффект еще больше усугубляется при использовании марихуаны в сочетании с другими незаконными препаратами [18] .

*Избыточный вес и ожирение*

Избыточный вес и ожирение связаны с избыточным накоплением жира, который может быть оценен с помощью индекса массы тела (ИМТ). Избыточный вес (ИМТ 25–<30 кг/м2 ) и ожирение (ИМТ ≥30 кг/м2 ) у мужчин ассоциируются со снижением качества спермы и повышенным риском бесплодия.

Отцовское ожирение связано с пониженным репродуктивным потенциалом мужчин. Мужчины, страдающие ожирением, имеют более высокий процент сперматозоидов с фрагментацией ДНК, аномальной морфологией и низким мембранным потенциалом митохондрий и более склонны к бесплодию [19].

*Преклонный возраст*

Анализ показателей спермы здоровых мужчин в широком возрастном диапазоне (22-80 лет) показал, что объем спермы и подвижность спермы снижались постепенно и непрерывно с возрастом без определенного возрастного порога . Однако ретроспективное исследование мужчин (в возрасте 16,5–72,3 лет) показало, что снижение параметров спермы и соответствующий возрастной порог были следующими: общее количество сперматозоидов и общее количество подвижных сперматозоидов - после 34 лет; концентрация и фракция сперматозоидов с нормальной морфологией-после 40 лет; подвижность сперматозоидов и прогрессивные параметры подвижных сперматозоидов-после 43 лет; объем эякулята-после 45 лет; соотношение Y:X-несущие сперматозоиды в эякулятах-после 55 лет. Так, авторы предположили, что независимо от возраста женщины вероятность наступления беременности снижается после полового акта с мужчинами в возрасте >34 лет [20,21] .

К нарушениям сперматогенеза могут приводить некоторые заболевания мочеполовой системы.

Хронический простатит является распространенным заболеванием у мужчин, и заболеваемость постепенно увеличивается. В 1999 году Национальные институты здравоохранения (NIH) классифицировали простатит на следующие четыре категории: I-острый бактериальный простатит; II-хронический бактериальный простатит; III-хронический простатит/синдром хронической тазовой боли (ХП/ХППС); и IV-бессимптомный воспалительный простатит [22,23]

Среди этих четырех типов хронический бактериальный простатит (ХБП) составляет примерно 5-10% всех симптоматических случаев , и около 30% взрослых мужчин страдают хроническим бактериальным простатитом, который присутствует с рецидивирующими инфекциями мочевыводящих путей . ХБП причинен бактериальной инфекцией и поддерживает условие более низкой инфекции мочевыводящих путей которая вызывает множественные разлады . Хотя бактериальная инфекция является основной причиной, оптимальное лечение все еще неизвестно. Антибиотики и другие препараты не могут полностью проникать в ткани предстательной железы, что ограничивает эффективность лечения. Из-за сложных состояний пациента, неэффективности лечения и высокой частоты рецидивов, ХБП серьезно влияет на здоровье взрослых мужчин [24,25,26,27,28].

В 1995 году исследование показало, что мужское бесплодие затронуло примерно 15% пар в Европе. Плохое качество спермы может быть наиболее распространенной причиной мужского бесплодия, и существует общее мнение, что снижение фертильности и ухудшение качества спермы может быть результатом инфекции мужской вспомогательной железы. Исследования показали, что патогенные бактерии, лейкоциты, цитокины и активные формы кислорода (АФК) могут быть основными механизмами бесплодия, возникающего в результате инфекции мужской придаточной железы и обработка широк-спектра смогла уменьшить плотность лейкоцитов в сперме и улучшить качество эякулятов [29,30,31,32,33].

Многие исследования показали отрицательное влияние ХБП на основные параметры спермы путем снижения общей подвижности спермы, процента прогрессивно подвижных сперматозоидов и задержки продолжительности сжижения спермы. Однако другие исследования показали противоречивые результаты [34,35,36,37].

*Варикоцеле*

Варикоцеле является одной из самых обсуждаемых тем в отношении репродуктивного здоровья мужчин. Считается, что варикоцеле диагностируется у 15% здоровых мужчин,у 35% пациентов с первичным бесплодием и у 80% мужчин со вторичным бесплодием. Негативные аспекты варикоцеле проявляются в отдаленном периоде и практически всегда имеют прогрессирующий характер [38].

Идиопатическое варикоцеле встречается часто, но точные оценки его распространенности широко варьируют. Кроме того, несмотря на все попытки объектизировать диагноз варикоцеле, он во многом остается субъективным, особенно в отношении первой и второй степени этой патологии. Распространенность варикоцеле в общей мужской популяции оценивают 15-20%. Принято считать, что среди мужчин, страдающих бесплодием, доля лиц с варикоцеле выше, чем в общей популяции, и достигает 40%. Варикоцеле занимает второе по частоте место (после идиопатического бесплодия) в структуре андрологической патологии .

Вопрос об истинной распространенности варикоцеле в здоровой популяции и среди страдающих бесплодием мужчин все еще окончательно не решен. Большая неопределенность существует в проблеме влияния варикоцеле на фертильность. На основании различий в частоте варикоцеле среди мужчин, имеющих детей, и пациентов клиник репродуктивной медицины некоторые считают что имеется связь между фертильностью и варикоцеле. Другие отрицают существование такой связи , поскольку варикоцеле не исключает возможности отцовства. При этом забывают о сложности проблемы фер- тильности, которая зависит от обоих партнеров. Легкие нарушения у одного из них могут компенсироваться особенно надежными половыми функциями другого. Трудности возникают лишь при нарушениях у обоих партнеров [39].

*Орхит*

Чаще всего орхит имеет вирусное происхождение. Повреждение яичек вызывают вирус эпидемического паротита, вирус Коксаки, вирус лимфоцитарного хорименингита, вирус Марбурга, арбовирусы группы В, вирус Денге, вирус ветряной оспы.

Эпидемический орхит, возникающий после полового созревания, сопровождается орхитом примерно в 25% случаев, причем в трети из них поражаются оба яичка. Обычно орхит развивается после паротита, но может и предшествовать ему. Изолированный орхит без паротита встречается редко, хотя такие случаи могут оставаться нераспознанными. Острая фаза инфекции сопровождается болезненным опуханием яичек, повышением температуры и общими симптомами. Повышение давления внутри яичек, приводящее к их ишемии, или сам вирус могут вызвать необратимое повреждение сперматогенеза. Функция клеток Лейдига, сниженная в острой фазе, обычно быстро восстанавливается. В случаях тяжелого повреждения паренхимы орхит приводит к атрофии яичек с необратимым полным склерозом семенных канальцев. Яички, пораженные вирусом паротита, приобретают характерную плотную консистенцию; паренхима при УЗИ часто выглядит неоднородной ("снежный шквал"). В эякуляте находят олиго (астено-терато) спермию или даже азооспермию. Уровень ФСГ как маркер повреждения зародышевого эпителия отчетливо повышен. [40]

*Инфекции семявыводящих путей*

Инфекции семенных путей могут играть важную роль в мужском бесплодии. Инфекции нарушают фертильность различными механизмами, включая повреждающий сперматогенез, нарушение функции сперматозоидов и обструкцию семенного тракта . Все больше данных свидетельствует о том, что вирусные инфекции играют определенную роль в патогенезе мужского бесплодия . Вирусные инфекции ухудшают мужскую фертильность, либо непосредственно вторгаясь в клетки мужских половых путей, либо косвенно вызывая местные воспалительные или иммунологические реакции, которые могут ухудшить репродуктивные функции. Кроме того, провоспалительные цитокины и активные формы кислорода (АФК) могут играть важную роль в бесплодии. АФК могут повреждать фертильность путем снижения содержания полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) на мембране сперматозоидов, включая повреждение ДНК и нарушение акросомальной реакции [41-48].Одной из ведущих ролей в становлении и нормальном функционировании сперматогенеза принадлежит Y- хромосоме.

Y-хромосома человека содержит гены, которые отвечают за развитие яичка, а также за инициацию и поддержание сперматогенеза в зрелом возрасте. Длинное плечо Y-хромосомы содержит множество ампликоновых и палиндромных последовательностей, что делает его предрасположенным к само- рекомбинации во время сперматогенеза и, следовательно, чувствительным к внутрихромосомным делециям. Такие делеции приводят к изменению числа копий в генах Y-хромосомы, что приводит к мужскому бесплодию. Три распространенные делеции Y-хромосомы, которые повторяются у бесплодных мужчин, называются микроделециями AZF (фактор азооспермии), а именно. AZFa, AZFb и AZFc [49].

Скрининг на микроделеции Y-хромосомы помогает определить причину мужского бесплодия и определить стратегию рационального ведения пациента. Поскольку эти делеции передаются 100% потомству мужского пола, рожденных посредством вспомогательной репродукции, тестирование делеций Y-хромосомы позволяет парам сделать осознанный выбор в отношении сохранения мужского бесплодия в будущих поколениях [50].

\*В приложении к диплому имеется “Схема строения Y-хромосомы человека”.

**1.2 Диагностика и принципы терапии нарушений сперматогенеза**

* *При сборе анамнеза и жалоб рекомендовано выяснить у пациента следующие сведения:*

• Перенесённые заболевания: лихорадка; повторные бронхиты или синуситы в детском возрасте указывают на заболевания дыхательной системы, которые могут сопровождаться бесплодием (синдром Картагенера, синдром Юнга или муковисцидоз); системные заболевания (сахарный диабет, злокачественные опухоли, инфекции); наследственные болезни (муковисцидоз, синдром Клайнфелтера); болезни мочевых путей и половых органов; травма, перекрут яичка.

• Перенесённые операции: орхипексия по поводу крипторхизма; операция по поводу паховой грыжи; операции на органах малого таза (в том числе на мочевом пузыре) и забрюшинном пространстве; трансуретральная резекция предстательной железы.

• Сексуальный анамнез: начало полового развития; сведения о фертильности: случались ли беременности у бывших или настоящих половых партнёрш; длительность бесплодия; лечение по поводу бесплодия; сведения о половой жизни и эрекции — время половых актов относительно овуляции и их частота, применение увлажняющих средств.

• Семейный анамнез: крипторхизм; синдром Картагенера; гипоспадия; приём тератогенных препаратов матерью во время беременности; другие редкие синдромы, например, синдром Игла–Баррета.

• Приём лекарственных средств: нитрофурантоин; циметидин; сульфасалазин; спиронолактон; α-адреноблокаторы.

• Вредные привычки: частые тепловые процедуры (баня); употребление алкоголя; курение; употребление кокаина и других наркотических средств; применение анаболических стероидов; профессиональные вредности; воздействие ионизирующего излучения; контакт с анилиновыми красителями; контакт с пестицидами; контакт с тяжёлыми металлами (например, свинцом). [51]

*Рекомендуется исследование эякулята (спермограмма) всем пациентам с подозрением на мужское бесплодие*

Анализ спермы является обязательным в диагностическом исследовании бесплодия, начиная с начала 1930-х годов. Анализ спермы дает ценную информацию для исследования нарушений и патологий, влияющих на мужской половой тракт, таких как варикоцеле, инфекции и гормональные нарушения, которые часто негативно влияют на репродуктивную способность мужчин [52,53].

При физикальном исследовании нормальный эякулят имеет однородный серый опалесцирующий внешний вид и обычно разжижается при комнатной температуре в течение 20 минут. Беловатый цвет может указывать на высокое количество сперматозоидов или наличие лейкоцитов; желтоватый вид и гнойный запах указывают на инфекции; красновато-коричневый цвет указывает на наличие эритроцитов (гемоспермия). При рН более 8, следует заподозрить инфекцию, а рН ниже 7,0 вместе с азооспермией указывают на порок развития или обструкцию придатка яичка, семявыносящих протоков, семенных пузырьков или эякуляторных путей.

Подвижность сперматозоидов исследуется в свежемороженом образце спермы при 400–600-кратном увеличении. Подвижность оценивается при 37°С или при комнатной температуре и выражается как процент клеток, отображающих следующие классы подвижности:

• PR: прогрессивная подвижность (все движения, как линейные, так и большие круги).

• NP: непрогрессивная подвижность (движение в маленьких кругах).

• IM: неподвижность (без движения).

Морфологию сперматозоидов исследуют в фиксированных препаратах, препарат лучше окрашивать по Папаниколау. Нормальные сперматозоиды имеют овальную головку с гладкими краями (длина 4-5,5 мкм, ширина 2,5-3,5 мкм) и интактные средний отдел и хвост. Должны быть ясно видна акросома, покрывающая 40-70% площади головки. Аномалии сперматозоидов разнообразны: размеры головки могут быть больше или меньше указанных; ее форма – конусообразной или грушевидной; головка может содержать вакуоли. Головка лишенных акросомы сперматозоидов обладает шаровидной формой (глобозооспермия). Некоторые клетки имеют двойную головку; головки необычной формы называют аморфными. Дефектными могут быть также средний отдел и хвост: хвосты бывают скрученными, фрагментированными или удвоенными. Иногда головка отделена от хвоста.

Специальные методы показали, что оценки концентрации, подвижности и морфологии сперматозоидов в значительной мере субъективны.

Объективно точно определить концентрацию сперматозоидов можно с помощью проточной ДНК-цитометрии. Гаплоидные сперматозоиды по окрашиванию ДНК отличаются от других клеток эякулята и поэтому поддаются точному измерению. Статистические ошибки сводятся к минимуму, так как за короткое время просчитывается несколько тысяч клеток.

Оценка подвижности сперматозоидов в наибольшей мере субъективна. Для объективации этого параметра лучше других методов подходит анализ траекторий отдельных клеток с помощью анализатора. Данная система позволяет определить не только долю подвижных клеток, но и такие параметры, как скорость и линейность их движения, а также амплитуда и частота боковых смещений головки.

Хуже всего разработаны методы стандартизации морфологии сперматозоидов.

Таким образом, полностью объективная оценка параметров эякулята пока невозможна. Поэтому на практике фундаментальное значение сохраняют обычные методы его анализа при тщательном контроле. Анализаторы следует рассматривать как факультативное и вспомогательное средство при обследовании бесплодных пар.

В 2010 году ВОЗ внесла существенные изменения в методы проведения и отчетности результатов рутинного анализа спермы. Изменения включили: оценка объема по весу, а не серологической пипеткой; в подвижности на две категории, а именно прогрессивными и отсталыми, в отличие от предыдущих четырех категориях, и морфология по строгим критериям (критерии Тайгерберге) по сравнению с критериями ВОЗ в предыдущих руководствах. Причиной изменения объема измерений послужили наблюдения о том, что аспирация спермы с помощью серологической пипетки снижает объем примерно на 0,5 мл (диапазон 0,3–0,8 мл) по сравнению с взвешиванием. В другом исследовании использование серологических пипеток снизило оценку «истинного» объема примерно на 17 % по сравнению с весом, что повлияло на общее количество сперматозоидов . Наряду с этим, изменения в методах оценки подвижности сперматозоидов были направлены на снижение субъективности интерсерверов, в то время как принятие строгих критериев морфологического анализа сперматозоидов соответствует низкому проценту сперматозоидов, классифицируемых как нормальные в цервикальной слизи [54-60].

В настоящее время анализ спермы основан на рекомендациях пятого издания руководства Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по исследованию и обработке спермы человека, в котором приводятся технологии и эталонные значения для оценки параметров спермы. Они включают в себя стандартные процедуры (макроскопическое исследование, первичное микроскопическое исследование, подсчет сперматозоидов, подвижность, жизнеспособность, морфологию, целостность мембраны, оценку лейкоцитов, незрелых половых клеток и тестирование на антителное покрытие сперматозоидов), дополнительные тесты (индексы множественных дефектов сперматозоидов, иммуноцитохимическое окрашивание Пан-лейкоцитов [CD45], взаимодействие сперматозоидов со слизью шейки матки, компьютерный анализ сперматозоидов и биохимический анализ) и исследовательские процедуры (реактивные виды кислорода, тесты взаимодействия сперматозоидов и ооцитов человека, связывание зоны pellucida человека тесты, оценка реакции акросомы, зон-свободный тест проникания ооцита хомяка, и оценка хроматина спермы).[61]

Анализ эякулята должен включать анализ лейкоцитов, выявляющий активность воспалительного процесса. Клиническое значение повышения концентрации лейкоцитов в эякуляте противоречиво, однако Руководством ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека рекомендовано выполнять исследование уровня лейкоцитов в эякуляте. На инфекцию указывает повышение уровня лейкоцитов (особенно полиморфноядерных) и продуктов их метаболизма (например, лейкоцитарной эластазы), выделяемых в семенную жидкость. Большинство лейкоцитов составляют нейтрофилы, на это указывает специфическое окрашивание при пероксидазной реакции. И хотя лейкоцитоспермия (пиоспермия) является признаком воспаления, она не всегда ассоциирована с бактериальной или вирусной инфекцией. Более ранние исследования показали, что повышение уровня лейкоцитов в эякуляте не служит истинной причиной мужского бесплодия. В соответствии с классификацией ВОЗ наличие >1×10 лейкоцитов/мл определяется как лейкоцитоспермия. Только в двух исследованиях проведен анализ содержания лейкоцитов в эякуляте при доказанном простатите . Оба исследования показали, что при простатите количество лейкоцитов в эякуляте больше, чем при отсутствии воспаления .

В большинстве случаев наблюдается транзиторное снижение числа сперматозоидов и их поступательного движения [62-69].

Анализ эякулята позволяет определить степень поражения инфекционным процессом предстательной железы или придатка яичка и получить информацию о качестве спермы. Кроме того, анализ числа лейкоцитов позволяет дифференцировать синдром хронической тазовой боли — воспалительного и невоспалительного характера .

После исключения уретрита и цистита, наличие пероксидазаположительных лейкоцитов в количестве более 10 на 1 мл эякулята свидетельствует о воспалительном процессе.

Согласно ВОЗ 2010 мужское бесплодие может быть классифицировано на основании семинограммы по следующим категориям:

* Азооспермия-отсутствие спермы в эякуляте, ее можно классифицировать как обструктивную азооспермию, где отсутствие спермы в эякуляте наблюдается в результате проблем в доставке спермы или необструктивную азооспермию, где отсутствие спермы в сперме из-за аномальной продукции спермы. NOA составляет 60% всех случаев азооспермии
* Олигозооспермия - менее 15-20 × 10 6 сперматозоидов в эякуляте
* Тяжелая олигозооспермия - менее 5 × 10 6 сперматозоидов в эякуляте
* Нормозооспермия-нормальные значения сперматозоидов в эякуляте
* Астенозооспермия-низкий уровень подвижности, наблюдаемый менее чем у 50% сперматозоидов
* Тератозооспермия - менее 30% сперматозоидов имеют нормальную морфологию
* Аспермия-нарушение эякуляции спермы

\*В приложении к диплому имеется таблица “Показатели нормальной спермограммы по ВОЗ 2010 г.”

С целью медикаментозной коррекции нарушений сперматогенеза в клинической практике последних десятилетий используются лекарственные средства, оказывающие прямое, либо опосредованное влияние на регуляцию в системе гипоталамус-гипофиз- тестикулы.

*Кломифена цитрат* является селективным модулятором рецептора эстрогена, который содержится в двух изоформах - энкломифена и цукломифена. Этот класс лекарств конкурентно связывается с рецепторами эстрогенов в гипоталамусе и гипофизе, тем самым оказывая стимулирующее действие на продукцию гонадотропинов. Увеличивающаяся секреция лютеинизирующего гормона (ЛГ) приводит к увеличению выработки тестостерона яичками. Усиление секреции фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) впоследствии приводит к усилению сперматогенеза. Поскольку действие кломифена цитрата связано с повышением уровня ФСГ, он не эффективен у пациентов с повышенным уровнем ФСГ [70,71].

Оптимальное дозирование кломифена цитрата было рекомендовано в дозах от 12,5 до 400 мг / день с возможностью введения более низких доз, что связано с периодом полувыведения 5 дней. Было предложено несколько режимов дозирования, включая 100 мг 3 раза в неделю с графиками дозирования, начиная с низкой дозы от 25 до 50 мг через день, с последующим увеличением до 50 мг в день для оптимизации результата. Влияние кломифена цитрата на гормональный уровень или параметры анализа спермы не является немедленным, и первое улучшение имеет тенденцию к увеличению процента подвижности [72].

*Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ)*

Использование ХГЧ для лечения мужского бесплодия чаще всего применяется для лечения пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом . Механизм действия ХГЧ включает его действие в качестве аналога ЛГ и его последующую роль в поддержании или повышении внутриклеточного уровня тестостерона [73].

В целом, при лечении бесплодия эффективна терапия ХГЧ; однако стоимость терапии исключает регулярное и широкое использование. Кроме того, ХГЧ, как правило, эффективен только тогда, когда уровни сывороточного ФСГ, ЛГ и / или тестостерона низки или находятся в нормальных пределах [70,74].

*Высокоочищенный препарат ФСГ*

Сразу же после появления высокоочищенного препарата ФСГ он был использован для лечения мужского бесплодия. При этом было обнаружено повышение способности сперматозоидов к оплодотворению яйцеклеток. Учитывая высокую стоимость и весьма незначительный успех такого лечения, терапию идиопатического бесплодия с помощью современных препаратов ФСГ вряд ли можно считать оправданной. Следует упомянуть, что в одном исследовании наблюдались электронно-микроскопические признаки улучшения морфологии сперматозоидов, увеличение объема яичек и конденсации ДНК сперматозоидов.

*Ингибиторы ароматазы*

В семеннике ароматаза локализуется в клетках Лейдига. Ингибиторы ароматазы могут выборочно повысить эндогенные уровни тестостерона без увеличения содержания эстрадиола в циркуляции [75,76,77].

Ингибиторы ароматазы хорошо переносятся при низких дозах. Побочные эффекты происходят в меньше чем у 10% пациентов и, как правило, клинически не значимы. Наиболее часто встречается преходящее повышение уровня печеночных ферментов, которое разрешается с прекращением терапии. Уменьшенное половое влечение было сообщено, так же, как слабые головные боли которые не требовали прекращения терапии [78,79,80,81].

\* В приложении к диплому имеется таблица “Рекомендуемая дозировка препаратов”

**ГЛАВА 2**

**ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ**

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**2.1** **Материалы исследования**

Исследования проводилось на базе отделения вспомогательных репродуктивных технологий НИИ АГиР им. Д.О. Отта. Всего исследованию подлежат 100 мужчин, участвовавших в программах ВРТ (ЭКО+ИКСИ) в период с января 2015 по декабрь 2017 года.

Критериями включения в исследование послужили следующие факторы: участие в программах ВРТ (ЭКО+ИКСИ), наличие данных анализа спермограммы, данных о стимуляции сперматогенеза, данных о наступлении беременности у супруги, качестве и количестве эмбрионов хорошего качества.

В ходе исследования мужчины были разделены на 3 группы.

В первую группу вошли мужчины, которым была проведена программа ЭКО/ИКСИ и стимуляция сперматогенеза. Всего в данную группу вошли 42 человека.

Во вторую группу вошли мужчины, которым была проведена программа ЭКО/ИКСИ, но не проводилась стимуляция сперматогенеза. Данную группу составили 26 человек.

В третью группу вошли мужчины, которым была проведена программа ЭКО/ИКСИ-ТЕЗА. Данную группу составили 32 человека.

**2.2** **Методы исследования**

При проведении исследования учитывались данные, полученные при:

• клинико-анамнестическом обследовании;

• лабораторном обследовании, уровни ФСГ, ЛГ, пролактина, тестостерона;

* исследовании спермограмы до и после стимуляции;

• изучении протоколов ЭКО, качестве и количестве перенесенных эмбрионов, наступлении клинической беременностей;

**2.3 Статистическая обработка**

Статистическая обработка проводилась в пакете SPSS версии 17.0.

Для описания полученных результатов применялись стандартные методики дескриптивной статистики.

Для анализа данных осуществлялся с помощью методов параметрической и непараметрической статистики, в зависимости от типа распределения переменных, а также с учетом специфики медико-биологических исследований.

Тип распределения количественных переменных определяли при помощи непараметрического критерия Холмогорова-Смирнова.

Для нормально распределенных величин применяли параметрические статистический тест т-критерия Стьюдента. Для обработки ненормально распределенных переменных применяли ранговые тесты типа U-теста Манна–Уитни. Качественные переменные обрабатывали при помощи критерия χ-квадрат и точного критерия Фишера в зависимости от объема выборки.

Анализ зависимых переменных осуществлялся с помощью парных аналогов статистических критериев.

Статистически значимыми считались различия при уровне p < 0,05.

Для поиска взаимосвязи между двумя количественными переменными в применялись методы корреляции Пирсона и ранговой корреляции Спирмена.

**ГЛАВА 3**

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**3.1 Сравнительный и многофакторный статистический анализы клинико – анамнестических данных**

*Таблица 1.*

**Общая характеристика исследуемых мужчин по причинам бесплодия**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| *Показатель* |  | *Частоты* | *% по подтаблице* |
| Хронический простатит | 0 | 80 | 80,0% |
| 1 | 20 | 20,0% |
| Варикоцеле | 0 | 81 | 81,0% |
| 1 | 19 | 19,0% |
| Следствия паротита | 0 | 88 | 88,0% |
| 1 | 12 | 12,0% |
| Инфекционные заболевания мочеполовой системы | 0 | 73 | 73,0% |
| 1 | 27 | 27,0% |
| Идиопатическое бесплодие | 0 | 54 | 54,0% |
| 1 | 46 | 46,0% |
| Биохимическая беременность | 0 | 70 | 70,0% |
| 1 | 30 | 30,0% |
| Беременность | 0 | 73 | 73,0% |
| 1 | 27 | 27,0% |
| Эмбрионы хорошего качества | 0 | 43 | 43,0% |
| 1 | 57 | 57,0% |
| Криоконсервация | 0 | 76 | 76,0% |
| 1 | 24 | 24,0% |

В исследовании большая часть (46,0%) пациентов была с «идиопатическим бесплодием», у 27,0% были диагностированы инфекционные заболевания мочеполовой системы, меньше у 20,0% мужчин в анамнезе был хронический простатит, варикоцеле различной степени было диагностировано у 19,0% пациентов, паротит в детстве отметили 12,0% больных.

Рис.1. Распределение исследуемых мужчин по перенесенным заболеваниям

*Таблица 2.*

**Общая характеристика возраста, уровней гонадотропинов, пролактина, тестостерона и показателей спермограммы**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| *Показатель* | *Среднее значение* | *Стандартное отклонение* | *Медиана* |
| Возраст, лет | 36 | 8 | 34 |
| ФСГ, мМЕ/мл | 8,0 | 8,1 | 5,6 |
| ЛГ, мМЕ/мл | 5,0 | 4,9 | 3,3 |
| Пролактин, нмоль/л | 229,9 | 146,4 | 176,7 |
| Тестостерон, нмоль/л | 17,3 | 6,4 | 15,7 |
| Объем, мл (до лечения) | 2,4 | 3,9 | 2,0 |
| Конц, 106/мл (до лечения) | 49,8 | 71,5 | 20,0 |
| А**-**активноподвижные (до лечения) | 28,3 | 26,0 | 24,1 |
| В**-**подвижные (до лечения) | 4,0 | 10,9 | 0,0 |
| С**-**слабоподвижные (до лечения) | 4,0 | 5,7 | 0,0 |
| D**-**неподвижные (до лечения) | 22,5 | 27,7 | 0,0 |
| Морфо (до лечения) | 3,0 | 4,0 | 1,0 |
| Объем (после лечения) | 8,3 | 29,2 | 2,9 |
| Конц (после лечения) | 102,0 | 197,3 | 44,5 |
| А**-**активноподвижные (после лечения) | 39,1 | 20,2 | 44,0 |
| В**-**подвижные (после лечения) | 18,3 | 23,5 | 10,0 |
| С-слабоподвижные (после лечения) | 10,8 | 7,3 | 8,6 |
| D**-**неподвижные (после лечения) | 52,9 | 25,5 | 48,0 |
| Морфо (после лечения) | 5,2 | 10,7 | 2,0 |
| Количество эмбрионов хорошего качества | 2 | 1 | 2 |

В исследовании приняли участие мужчины в возрасте от 24 до 40 лет, учитываю что, средний возраст исследуемых мужчин составил 36±8 года.

При анализе уровней гонадотропинов средний уровень ФСГ составил (8,0±8,1); ЛГ(8,0±8); Пролактин **(**229,9±146,4); Тестостерон  **(**17,3±6,4).

*Таблица 3.*

**Сравнительная характеристика возраста исследуемых мужчин**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | *Группа со ст.с.*  *(n=42)* | | *Группа без ст.с.*  *(n=26)* | | *Группа ТЕЗА*  *(n=32)* | | *p-value (sig)* |
|  | ср. ±ст. откл. | медиана | ср. ±ст. откл. | медиана | ср. ±ст. откл. | медиана |  |
| Возраст, лет | 36±7 | 34 | 37±7 | 37 | 36±9 | 33 | 0,520 |

В исследовании приняли участие мужчины в возрасте от 24 до 40 лет, учитываю что, средний возраст исследуемых мужчин составил 36±7 года.

Статистически значимых различий между тремя группами по возрасту не обнаружено.

Статистически значимые различия выявлены между тремя группами по частоте встречаемости некоторых причин бесплодия. Хронический простатит в группе со стимуляцией сперматогенеза составил (33,3%), без стимуляции сперматогенеза (3,8%),ТЕЗА (15,6%) ( р=0,01); варикоцеле в группе со стимуляцией сперматогенеза составил (7,1%), без стимуляции сперматогенеза (19, 2%),ТЕЗА (34,4%) ( р=0,013); идиопатическое бесплодие в группе со стимуляцией сперматогенеза составил (40,5%), без стимуляции сперматогенеза (69,2%),ТЕЗА (34,4%) ( р=0,019).

Рис.2. Распределение пациентов по хроническому простатиту в группах

Рис.3. Распределение пациентов по варикоцеле в группах

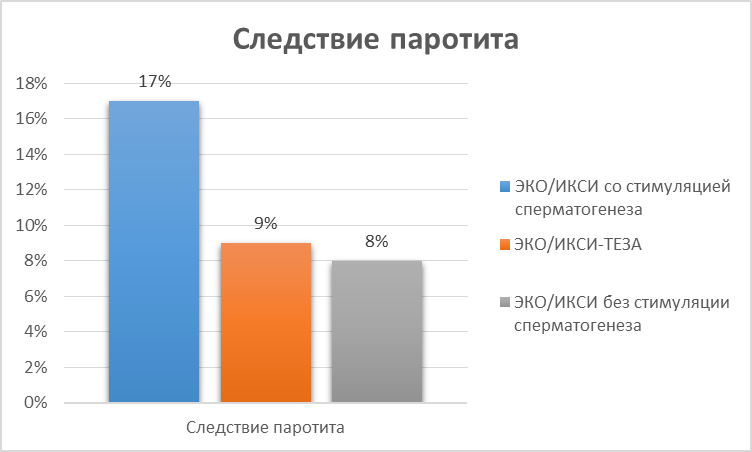


Рис.4. Распределение пациентов паротиту в группах

Рис.5. Распределение пациентов по инфекционным заболеваниям мочеполовой системы

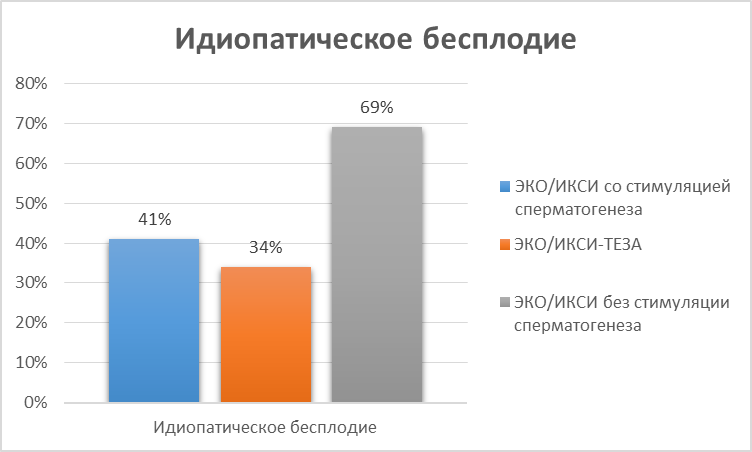


Рис.6. Распределение пациентов по идиопатическому бесплодию

*Таблица 4.*

**Сравнительная характеристика уровней гонадотропинов, пролактина и половых гормонов в крови в группах**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| *Показатель* | *Группа со ст.с.*  *(n=42)* | | | *Группа без ст.с.*  *(n=26)* | | | *Группа ТЕЗА*  *(n=32)* | | | *p-value (sig)* |
|  | Среднее | Стандартное отклонение | Медина | Среднее | Стандартное отклонение | Медина | Среднее | Стандартное отклонение | Медина |  |
| ФСГ, мМЕ/мл | 5,7 | 3,9 | 4,4 | 10,8 | 9,5 | 5,6 | 10,3 | 10,9 | 6,8 | 0,323 |
| ЛГ,мМЕ/мл | 3,2 | 1,4 | 3,2 | 6,3 | 6,7 | 2,5 | 7,1 | 6,7 | 5,5 | 0,062 |
| Пролактин,  нмоль/л | 206,2 | 100,7 | 176,7 | 433,5 | 299,7 | 276,4 | 195,9 | 89,1 | 164,0 | 0,193 |
| Тестостерон,  нмоль/л | 14,1 | 3,1 | 14,3 | 20,8 | 0,0 | 20,8 | 18,4 | 8,0 | 15,7 | 0,509 |

В группе со стимуляцией сперматогенеза уровень ФСГ составил (5,7±3,9), а в группе без стимуляции сперматогенеза (10,8±9,5); в группе ТЕЗА **(**10,3±10,9). Однако значимых различий между группами по уровню данного гонадотропина обнаружено не было (p = 0,323).

При сравнении ЛГ не обнаружено значимых различий, но определенная тенденция прослеживается в группе ТЕЗА ( 7,1±6,7); в группе без стимуляции сперматогенеза (6,3±6,7) ; в группе со стимуляцией сперматогенеза (3,2±1,4) ( р=0,062).

Самый высокий уровень пролактина наблюдается в группе без стимуляции сперматогенеза (433,5±299,7), чуть ниже в группе со стимуляцией (206,2±100,7), а еще ниже в группе ТЕЗА (195,9±89,1), тем не менее статистически значимых различий между тремя группами не обнаружено (р=0,193). Достоверных различий по уровню ФСГ, ЛГ, пролактина и тестостерона получено не было ( р>0,05).

Рис.7. Сравнение уровня ФСГ в группах

Рис.8. Сравнение уровня ЛГ в группах

Рис.9. Сравнение уровня пролактина в группах

Рис.10. Сравнение уровня тестостерона в группах

*Таблица 5.*

**Оценка показателей спермограммы в группах**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| *Показатель* | *Группа со ст.с.*  *(n=42)* | | | *Группа без ст.с.*  *(n=26)* | | | *Группа ТЕЗА*  *(n=32)* | | |  |
|  | Среднее | Станд.  откл. | Медиана | Среднее | Станд.  откл. | Медиана | Среднее | Станд.  откл. | Медиана | p-value (sig) |
| Объем,мл | 4,2 | 5,7 | 3,0 | 3,3 | 1,6 | 2,5 | 0,4 | 1,4 | 0,0 | 0,000 |
| Концентрация, 106/мл | 75,4 | 80,2 | 44,0 | 67,7 | 71,0 | 49,0 | 0,8 | 4,0 | 0,0 | 0,000 |
| А**-**активноподвижные | 40,4 | 19,2 | 42,4 | 46,5 | 22,1 | 50,0 | 0,1 | 0,4 | 0,0 | 0,000 |
| В**-**подвижные | 13,9 | 2,7 | 14,8 | 33,0 | 35,4 | 33,0 | 0,4 | 1,9 | 0,0 | 0,000 |
| С**-**слабоподвижные | 10,0 | 6,7 | 9,0 | 8,0 | 3,9 | 8,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,000 |
| D**-**неподвижные | 51,6 | 20,3 | 47,9 | 37,1 | 23,5 | 31,5 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,000 |
| Морфология | 2,9 | 4,1 | 1,0 | 2,6 | 1,8 | 2,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,000 |

В группе ТЕЗА наблюдается значимое снижение всех показателей спермогаммы (р=0,000).

Группа, которой не проводилась стимуляция спермотогенеза имеет нормальные значения спермограммы. Уровень объема составил (3,3±1,6); концентрации (67,7±71,0); категория А-активноподвижные сперматозоиды (46,5±22,1); категория В- подвижные (33,0±35,4); категория С - слабоподвижгые (8,0±3,9); категория D – неподвижные (37,1±23,5).

В группе со стимуляцией сперматогенеза обращает на себя внимание сниженный уровень категории В - подвижные сперматозоиды (13,9±2,7), при нормальных значениях более 50 %. Также в данной группе наблюдается большое количество неподвижных сперматозоидов – категория D (51,6±20,3), при нормальных значениях не более 6-10%.

При изучении морфологии обнаруживается снижение нормальных форм в группах с (2,9±4,1) и без (2,6±1,8) стимуляции сперматогенеза.

*Таблица 6.*

**Сравнение группы по результатам спермограммы до и после стимуляции сперматогенеза**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | *До стимуляции сперматогенеза* | | | *После стимуляции сперматогенеза* | | |  |
|  | Среднее | Стандартное отклонение | Медиана | Среднее | Стандартное отклонение | Медина | p-value (sig) |
| Объем, мл | 4,2 | 5,7 | 3,0 | 3,2 | 1,5 | 2,9 | 0,575 |
| Концентрация,106/мл | 75,4 | 80,2 | 44,0 | 101,1 | 197,3 | 44,5 | 0,330 |
| А**-**активноподвижные | 40,4 | 19,2 | 42,4 | 39,1 | 20,2 | 44,0 | 0,484 |
| В**-**подвижные | 13,9 | 2,7 | 14,8 | 18,3 | 23,5 | 10,0 | 0,291 |
| С**-**слабоподвижные | 10,0 | 6,7 | 9,0 | 10,8 | 7,3 | 8,6 | 0,317 |
| D**-**неподвижные | 51,6 | 20,3 | 47,9 | 52,9 | 25,5 | 48,0 | 0,102 |
| Морфология | 2,9 | 4,1 | 1,0 | 5,2 | 10,7 | 2,0 | 0,013 |

Данное сравнение проводилось с помощью критерия Уилкоксона, потому что для связных выборок используются другие тесты. В данной таблице прослеживается увеличение концентрации. До лечения уровень концентрации составлял (75,4±80,2), а после лечения (101,1±197,3), однако достоверных различий не получено (р=0,330).

При изучении морфологии до (2,9±4,1) и после (5,2±10,7) стимуляции сперматогенеза были обнаружены статистически значимые различия (p =0,013).

Рис.11. Концентрация до и после стимуляции сперматогенеза

Рис.12. Количество нормальных форм (морфология) до и после стимуляции сперматогенеза

**3.2 Клиническая эффективность проведения программ ВРТ (ЭКО+ИКСИ) в зависимости от проведения стимуляции сперматогенеза**

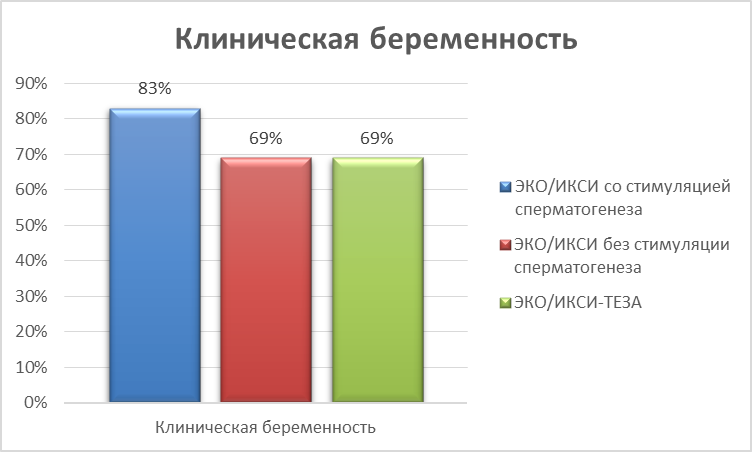


Рис. 13. Наступление клинической беременности у супруги в группах

В группе со стимуляцией сперматогенеза клиническая беременность у супруги наступила в 83,3 % случаев, в 16,6 % – не наступила; в группе без стимуляции сперматогенеза клиническая беременность у супруги наступила в 69,2 % случаев, в 30,8 %; в группе ТЕЗА клиническая беременность у супруги наступила в 68,7 % случаев, в 31,2 %

**3.3 Эмбриологические параметры протоколов ЭКО/ИКСИ в зависимости от проведения стимуляции сперматогенеза**

*Таблица 7.*

**Оценка межгрупповых различий по данным протоколов ЭКО и эмбриологических протоколов**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | *Группа со ст.с.*  *(n=42)* | *Группа без ст.с.*  *(n=26)* | *Группа*  *ТЕЗА*  *(n=32)* | *p-value (sig)* |
| Криоконсервация | 19,0% | 30,8% | 25,0% | 0,539 |
| Эмбрионы хорошего качества | 50,0% | 69,2% | 56,3% | 0,296 |

Эмбрионы хорошего качества были получены в группе со стимуляцией сперматогенеза в 50,0% случаев (p=0,296), однако это не является статистически значимым. Количество эмбрионов хорошего качества составило 2±0 (p=0,866).

**3.4 Частота генетических нарушений у пациентов с мужским фактором бесплодия**

Генетические нарушения у пациентов с выраженными нарушениями сперматогенеза, включая анеуплоидии и AZF делеции составляет 6%.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В ходе исследования мужчины были разделены на три группы: группа со стимуляцией сперматогенеза, группа без стимуляции сперматогенеза и группа ТЕЗА.

Была произведена оценка эффективности стимуляции сперматогенеза на показателях спермограммы, значимые различия были выявлены при изучении морфологии ( р=0,013).

Была проведена оценка частоты наступления биохимической и клинической беременности после проведения программ ВРТ (ЭКО+ИСИ) в зависимости от стимуляции сперматогенеза, при этом достоверных различий выявлено не было.

В ходе исследования были выявлены генетические нарушения у пациентов с выраженными нарушениями сперматогенеза - 6%. Поскольку эти делеции передаются 100% потомству, это диктует необходимость применения генетических методов исследования при обследовании этой категории пациентов.

**ВЫВОДЫ**

1. Средний возраст исследуемых мужчин составил 36±7 года. Статистически значимые различия выявлены между тремя группами по частоте встречаемости хронического простатита ( р=0,01); варикоцеле ( р=0,013); идиопатическому бесплодию ( р=0,019).

Достоверных различий по уровню ФСГ, ЛГ, пролактина и тестостерона получено не было ( р>0,05);

2. Применение стимуляции сперматогенеза показало статистически значимые различия в отношении морфологии сперматозоидов. До начала лечения средняя доля морфологически нормальных сперматозоидов составляло (2,9 %) , а после лечения их доля достоверно возросла до 5,2% ( р=0,013).

3. Эффективность применения методов ВРТ (ЭКО+ИКСИ) в сочетании со стимуляцией сперматогенеза для достижения биохимической беременности у пациентов с мужским фактором бесплодия достигает 12 %, а для достижения клинической беременности 9 % на перенос эмбриона. Достоверных различий в наступлении биохимической и клинической беременности у супруги не выявлено.

4. Эмбрионы хорошего качества были получены в группе со стимуляцией сперматогенеза в 21,0% случаев (p=0,296), однако это не является статистически значимым.

5. У 6%. пациентов с выраженными нарушениями сперматогенеза выявляются генетические нарушения, что диктует необходимость применения генетических методов исследования при обследовании этой категории пациентов.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. WHO-ICMART revised glossary

2. Infecundity, infertility, and childlessness in developing countries. Demographic and Health Surveys (DHS) Comparative reports No. 9

3. World Health Organization Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. Int J Androl (Suppl.) 1987;7:1–53

4. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. Reprod Biol Endocrinol. 2015;13:37–46.

5. Mehta A, Nangia AK, Dupree JM., et al. Limitations and barriers in access to care for male factor infertility. Fertil Steril 2016;105:1128-37. 10.1016/j.fertnstert.2016.03.023

6. Chandra A, Copen CE, Stephen EH. Infertility service use in the United States: data from the National Survey of Family Growth, 1982-2010. Natl Health Stat Report 2014;(73):1-21.

7. Eisenberg ML, Lathi RB, Baker VL, et al. Frequency of the male infertility evaluation: data from the national survey of family growth. J Urol 2013;189:1030-4. 10.1016/j.juro.2012.08.239

8. Palermo GD, Neri QV, Cozzubbo T, Rosenwaks Z Fertil Steril. 2014 Dec; 102(6):1508-17.

9. ESHRE 2012. World’s number of IVF and ICSI babies has now reached a calculated total of 5 million. ScienceDaily 2 July 2012.

10. Sullivan EA, Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, de Mouzon J, Nygren KG, Adamson GD Hum Reprod. 2013 May; 28(5):1375-90.

11. Journal List: Reproductive Biology and Endocrinology,2018

12. Journal List: Translational Andrology and Urology, 2018

13. Harlev A., Agarwal A., Gunes S.O., Shetty A., du Plessis S.S. Smoking and male infertility: an evidence-based review. World J Mens Health. 2015;33: 143–160.

14. Emanuele M.A., Emanuele N.V. Alcohol's effects on male reproduction. Alcohol Health Res World. 1998;22:195–201.

15. Pajarinen J., Karhunen P.J., Savolainen V., Lalu K., Penttila A., Laippala P. Moderate alcohol consumption and disorders of human spermatogenesis. Alcohol Clin Exp Res. 1996;20:332–337.

16. Muthusami K.R., Chinnaswamy P. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. Fertil Steril. 2005;84:919–924.

17. Maneesh M., Jayalekshmi H., Dutta S., Chakrabarti A., Vasudevan D.M. Effect of chronic ethanol administration on testicular antioxidant system and steroidogenic enzyme activity in rats. Indian J Exp Biol. 2005;43:445–449.

18. Gundersen T.D., Jorgensen N., Andersson A.M., Bang A.K., Nordkap L., Skakkebaek N.E. Association between use of marijuana and male reproductive hormones and semen quality: a study among 1,215 healthy young men. Am J Epidemiol. 2015;182:473–481.

19. Campbell J.M., Lane M., Owens J.A., Bakos H.W. Paternal obesity negatively affects male fertility and assisted reproduction outcomes: a systematic review and meta-analysis. Reprod Biomed Online. 2015;31:593–604.

20. Eskenazi B., Wyrobek A.J., Sloter E., Kidd S.A., Moore L., Young S. The association of age and semen quality in healthy men. Hum Reprod. 2003;18:447–454.

21. Stone B.A., Alex A., Werlin L.B., Marrs R.P. Age thresholds for changes in semen parameters in men. Fertil Steril. 2013;100:952–958.

22. Khaikova A. et al. P3-S1.05 Incidence of STI in patients with chronic prostatitis. Sex. Tran. Infect. 87, A268 (2011).

23. Krieger J. N., Nyberg L. Jr, & Nickel J. C. NIH consensus definition and classification of prostatitis. JAMA. 282, 236–237 (1999).

24. Hu X. Y. et al. Reduced semen quality in chronic prostatitis patients that induce the release of apoptotic protein Omi/HtrA2 from spermatozoa. Prostate Cancer Prostatic Dis. 10, 104–108 (2007).

25. Habermacher G. M., Chason J. T. & Schaeffer A. J. Prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. Annu. Rev. Med. 57, 195–206 (2006).

26. Nickel J. C. Prostatitis: evolving management strategies. Urol. Clin. North. Am. 26, 737–751 (1999).

27. Liu Y., Liu Z., Li T. & Ye G. Ultrasonic sonoporation can enhance the prostate permeability. Med. Hypotheses. 74, 449–451 (2010).

28. Schaeffer A. J. et al. Demographic and clinical characteristics of men with chronic prostatitis: the National Institutes of Health Chronic Prostatitis Cohort Study. J. Urol. 168, 593–598 (2002).

29. Schmidt I. & Munster K. Infertility, involuntary infecundity, and the seeking of medical advice in industrialized countries1970-1992: a review of concepts, measurements and results. Hum. Reprod. 10, 1407–1418 (1995).

30. Rusz A. et al. Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility. World J. Urol. 30, 23–30 (2012).

31. La Vignera S., Vicari E., Condorelli R. A., D'Agata R. & Calogero A. E. Male accessory gland infection and sperm parameters. Int. J. Androl. 34, 330–347 (2011).

32. Everaert K., Mahmoud A., Depuydt C., Maeyaert M. & Comhaire F. Chronic prostatitis and male accessory gland infection—is there an impact on male infertility (diagnosis and therapy)? Andrologia. 35, 325–330 (2003).

33. Skau P. A. & Folstad I. A meta-analysis of antibiotic treatment of male infertility. Behavioral Ecol. 14, 40–47 (2003).

34. Ausmees K., Korrovits P., Timberg G., Punab M. & Mändar R. Semen quality and associated reproductive indicators in middle-aged males: the role of non-malignant prostate conditions and genital tract inflammation. World J. Urol. 31, 1411–1425 (2013).

35. Motrich R. D. et al. Reduced semen quality in chronic prostatitis patients that have cellular autoimmune response to prostate antigens. Hum. Reprod. 20, 2567–2572 (2005).

36. Li J. L. The effect of chronic prostatitis on the semen quality. Med. Inn. China. 6, 48–49 (2009).

37. Wang Q., Cui Y. H., Zhang J. P. & Kong Y. H. Study on effective living spermatic index of semen in chronic bacterial prostatitis patients. J. Jining Med. Coll. 23, 53 (2000).

38. Chehval MJ, Purcell RN (1992) Deterioration of semen parameters over time in men with untreated varicocele: evidence of progressive testicular damage. Fertil Steril 57:174.

39. Eberhard Nieschlag , Hermann M. Behre, Susan Nieschlag Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction,3rd Edition, 200 (2010).

40. Schuppe HC, Meinhardt A, Allam JP et al (2008) Chronic orchitis: a neglected cause of male infertility? Andrologia 40:84–91.

41. Bar-Chama N, Fisch H. Infection and pyospermia in male infertility. World J Urol. 1993;11:76–81.

42. Purvis K, Christiansen E. The impact of infection on sperm quality. Human Reprod. 1996;11:31–41.

43. Lai YM, Lee JF, Huang HY, Soong YK, Yang FP, Pao CC. The effect of human papillomavirus infection on sperm cell motility. Fertil Steril. 1997;67:1152–5.

44. Erles K, Rohde V, Thaele M, Roth S, Edler L, Schlehofer JR. DNA of adeno-associated virus (AAV) in testicular tissue and in abnormal semen samples. Hum Reprod. 2001;16:2333–7.

45. Dejucq N, Jégou B. Viruses in the mammalian male genital tract and their effects on the reproductive system. Microbiol Mol Biol Rev. 2001;65:208–31.

46. Keck C, Gerber-Schäfer C, Clad A, Wilhelm C, Breckwoldt M. Seminal tract infections: impact on male fertility and treatment options. Hum Reprod Update. 1998;4:891–903.

47. Comhaire FH, Mahmoud AM, Depuydt CE, Zalata AA, Christophe AB. Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. Hum Reprod Update. 1999;5:393–8.

48. Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical reоlevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. Am J Reprod Immunol. 2008;59:2–11.

49. Hughes JF, Page DC. The biology and evolution of mammalian Y chromosomes. Annu Rev Genet. 2015;49:507–527.

50. Navarro-Costa P, Gonçalves J, Plancha CE. The AZFc region of the Y chromosome: at the crossroads between genetic diversity and male infertility. Hum Reprod Update. 2010;18:525–542.

51. ESHRE Andrology Special Interest Group. Consensus workshop on advanced diagnostic andrology techniques // Hum.

52. Reprod. — 1996. — Vol. 11. — P. 1463– 1479.

53. Sigman M, Baazeem A, Zini A. Semin Reprod Med. 2009 Mar; 27(2):115-23.

54. Brazil C. Asian J. Androl. 2010 Jan; 12(1):14-20.

55. World Health Organization . WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5. Geneva: World Health Organization; 2010. p. 271.

56. Esteves SC. Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination. Int Braz J Urol. 2014;40:443–53. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.04.02.

57. Brazil C, Swan SH, Drobnis EZ, Liu F, Wang C, Redmon JB, et al. Standardized methods for semen evaluation in a multicenter research study. J Androl. 2004;25:635–44. doi: 10.1002/j.1939-4640.2004.tb02835.x.

58. Iwamoto T, Nozawa S, Yoshiike M, Hoshino T, Baba K, Matsushita T, et al. Semen quality of 324 fertile Japanese men. Hum Reprod. 2006;21:760–5. doi: 10.1093/humrep/dei362.

59. Pompeu C, Feijo C, Esteves S. Comparison between analytical scale and graduated serological pipette for semen volume analysis: a cross sectional study. Hum Reprod. 2015;30(Suppl 1):i331–2.

60. Van Waart J, Kruger TF, Lombard CJ, Ombelet W. Predictive value of normal sperm morphology in intrauterine insemination (IUI): a structured literature review. Hum Reprod Update. 2001;7:495–500. doi: 10.1093/humupd/7.5.495.

61. Esteves SC, Zini A, Aziz N, Alvarez JG, Sabanegh ES, Jr, Agarwal A. Critical appraisal of World Health Organizations new reference values for human semen characteristics and effect on diagnosis and treatment of subfertile men. Urology. 2012;79:16–22. doi: 10.1016/j.urology.2011.08.003.

62. Björndahl L. Methods for sperm concentration determination. Methods Mol Biol. 2013;927:3–12.

63. Aitken R.J., West K., Buckingham D. Lеukocytic infiltration into the human ejaculate and its association with semen quality, oxidative stress, and spermfunction // J. Androl. — 1994. — Vol. 15. — P. 343.

64. Belker A.M., Thomas A.J., Fuchs E.F. et al. Results of 1,469 microsurgical vasectomy reversals by the vasovasostomy study group // J. Urol. — 1991. — Vol. 145. — P. 505.

65. Bennett C.J., Seager S.W., Vasher E.A. et al. Sexual dysfunction and electroejaculation in men with spinal cord injury: Review // J. Urol. — 1988. — Vol. 139. — P. 453.

66. Clarke G.N., Elliot P.J., Smaila C. Detection of sperm antibodies in semenusing the immunobead test: A survey of 813 consecutive patients // Am.J. Reprod. Immunol. Microbiol. — 1985. — Vol. 7. — P. 118.

67. Campbell’s Urology. — 8th ed. / Ed.P. C. Walsh. — Vein, 2002.

68. Redfern T.R., English P.J., Baumber C.D., McGhie D. The aetiology and management of acute epididymitis Br J Surg.1984;71 (9):703–705.

69. Deeg K.H., Wild F. Colour Doppler imaging — a new method to differentiate torsion of the spermatic cord and epididymoorchitis. Eur J Pediatr. 1990;149:253– 255.

70. Mufti R.A., Ogedegbe A.K., Lafferty K. The use of Doppler ultrasound in the clinical management of acute testicular pain. Br J Urol. 1995;76:625–627.

71. Ring JD, Lwin AA, Köhler TS. Current medical management of endocrine-related male infertility. Asian J Androl 2016;18:357-63.

72. Kim ED, Crosnoe L, Bar-Chama N, et al. The treatment of hypogonadism in men of reproductive age. Fertil Steril 2013;99:718-24.

73. Chehab M, Madala A, Trussell JC. On-label and off-label drugs used in the treatment of male infertility. Fertil Steril 2015;103:595-604.

74. Ramasamy R, Armstrong JM, Lipshultz LI. Preserving fertility in the hypogonadal patient: an update. Asian J Androl 2015;17:197-200.

75. Check JH. Treatment of male infertility. Clin Exp Obstet Gynecol 2007;34:201-6.

76. Inkster S, Yue W, Brodie A. Human testicular aromatase: immunocytochemical and biochemical studies. J Clin Endocrinol Metab 1995;80:1941-7.

77. Raven G, de Jong FH, Kaufman JM, et al. In men, peripheral estradiol levels directly reflect the action of estrogens at the hypothalamo-pituitary level to inhibit gonadotropin secretion. J Clin Endocrinol Metab 2006;91:3324-8.

78. T'Sjoen GG , Giagulli VA, Delva H, et al. Comparative assessment in young and elderly men of the gonadotropin response to aromatase inhibition. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:5717-22.

79. Pavlovich CP, King P, Goldstein M, et al. Evidence of a treatable endocrinopathy in infertile men. J Urol 2001;165:837-41.

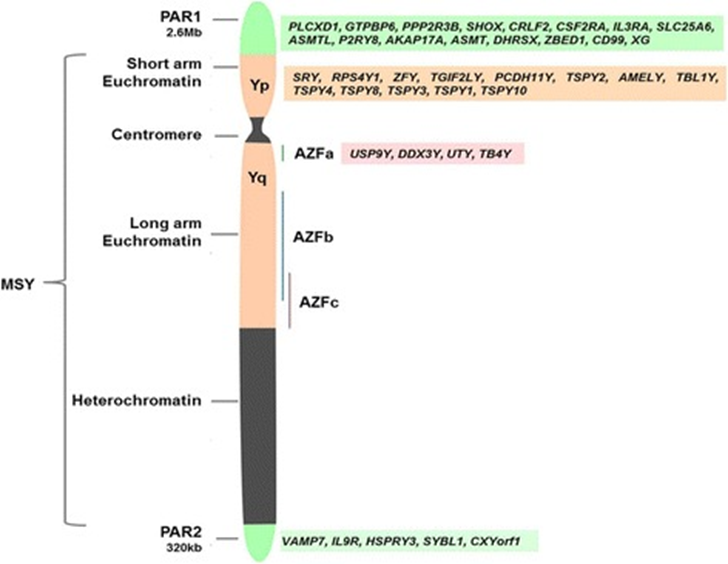
80. Raman JD, Schlegel PN. Aromatase inhibitors for male infertility. J Urol 2002;167:624-9.

81. Carreau S, Bouraima-Lelong H, Delalande C. Estrogen, a female hormone involved in spermatogenesis. Adv Med Sci 2012;57:31-6.

82. Shoshany O, Abhyankar N, Mufarreh N, et al. Outcomes of anastrozole in oligozoospermic hypoandrogenic subfertile men. Fertil Steril 2017;107:589-94.

**ПРИЛОЖЕНИЯ**

*Приложение 1.*



Строение Y-хромосомы человека [Journal List: Reproductive Biology and Endocrinology,2018 ]

Псевдо-аутосомные области [PAR1 и PAR2] расположены на терминальных концах Y-хромосомы. Зеленым цветом указаны гены, закодированные в этих регионах. Yp - короткое плечо Y-хромосомы, и гены внутри него показаны розовым цветом. Длинная рука, Yq, состоит как из эухроматина, так и из генетически неактивных гетерохроматиновых областей. Этот регион содержит факторы азооспермии AZFa, AZFb и AZFc. Розовая рамка показывает гены в регионе AZFa. Область за пределами PAR называется мужской специфической областью на Y (MSY)

*Приложение 2.*

**“Показатели нормальной спермограммы по ВОЗ 2010 г.”[ Journal List: J Assist Reprod Genet,2016]**

|  |  |
| --- | --- |
| **Параметр эякулята** | **Значение**  **(5-й перцентиль)** |
| Объем | 1,5 мл |
| Концентрация сперматозоидов | 15 х106/мл |
| Общая подвижность | 40% |
| Прогрессивная подвижность | 32% |
| Морфология (%нормальных форм) | 4% |

*Приложение 3.*

**“Рекомендуемая дозировка препаратов” [Journal List: Translational Andrology and Urology, 2018]**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Препарат** | **Рекомендуемая дозировка** | **Побочные действия** |
| Кломифена цитрат | Диапазон: 25–400 мг; 100 мг 3 раза в неделю; 25 мг в день | Головокружение, выпадение волос, гинекомастия, увеличение веса |
| Хорионический гонадотропин человека | Диапазон: начальная доза 3000+75 МЕ 2 раза в неделю; 5000 МЕ 3 раза в неделю ; 1500-3000 МЕ 3 раза в неделю | Гинекомастия, гипергликемия, головная боль, депрессия |
| Анастрозол | 1 мг / сут; ежедневно | Повышенные энзимы печени, уменьшенное половое влечение, головные боли |