

Прогнозирование исходов биопсии яичка у больных с азооспермией с учетом клинических, эндокринных и генетических факторов

В.А.Торопов[✉], С.Ю.Боровец, В.Н.Ткачук

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» Минздрава России. 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8

[✉]toropov-1990@mail.ru

Введение. Распространенность азооспермии в популяции всех мужчин составляет 1%, а среди бесплодных мужчин – 10–15%. Причиной азооспермии могут быть различные клинические, эндокринные, генетические и другие факторы.

Цель исследования: выявление клинических, эндокринных и генетических факторов, влияющих на частоту обнаружения сперматозоидов при открытой биопсии яичка у больных с азооспермией.

Пациенты и методы. Обследованы 44 мужчины, страдающие необструктивной азооспермией, в возрасте от 20 до 55 лет. Всем больным перед выполнением биопсии яичка был проведен широкий спектр инструментальных, лабораторных и физикальных методов исследования. В плазме крови определяли уровень лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормонов (ФСГ), пролактина, общего и свободного тестостерона, эстрадиола, глобулина, связывающего половые гормоны. Генетические тесты включали исследование кариотипа и определение фактора азооспермии.

Результаты. При факторном анализе были определены 3 фактора, т.е. 3 совокупности гормональных и клинических показателей, влияющих на исход открытой биопсии яичка. Оказалось, что объясненная дисперсия достигла 85%, а индивидуальная значимость третьего фактора была высокоинформативной. «Нейронная сеть» позволила выявить факторы, влияющие на частоту обнаружения сперматозоидов при открытой биопсии яичка.

Выводы. На исход биопсии яичка у больных с азооспермией оказывают влияние 3 группы факторов: первый – ФСГ и ЛГ, второй – пролактин и возраст, третий – возраст и общий тестостерон. «Нейронная сеть» выявила предикторы исходов testicular sperm extraction (TESE), которыми являются совокупность клинических (наличие операции по поводу варикоцеле в прошлом, возраст больного старше 30 лет), эндокринных (высокий ФСГ) и генетических факторов (наличие синдрома Клайнфельтера, микроделеций AZFc).

Ключевые слова: бесплодие, азооспермия, факторный анализ, нейронная сеть, открытая биопсия яичка.

Для цитирования: Торопов В.А., Боровец С.Ю., Ткачук В.Н. Прогнозирование исходов биопсии яичка у больных с азооспермией с учетом клинических, эндокринных и генетических факторов. Consilium Medicum. 2017; 19 (7): 83–85. DOI: 10.26442/2075-1753_19.7.83-85

Short survey

The prediction of outcomes of the testicular biopsy in patients with azoospermia using clinical, endocrine and genetic factors

V.A.Toropov[✉], S.Yu.Borovets, V.N.Tkachuk

I.M.Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation. 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, ul. L'va Tolstogo, d. 6/8

[✉]toropov-1990@mail.ru

Abstract

Introduction. The prevalence of azoospermia in the population of all men is 1%, and among infertile men – 10–15%. The cause of azoospermia can be various clinical, endocrine, genetic and other factors.

The purpose of the study: the identification of clinical, endocrine and genetic factors affecting the detection rate of spermatozoa with open testicular biopsy in patients with azoospermia.

Patients and methods. 44 men with non-obstructive azoospermia aged from 20 to 55 years were examined. All patients had a wide range of instrumental, laboratory and physical methods of research before performing a testicular biopsy. In the blood plasma, the level of luteinizing (LH) and follicle-stimulating hormones (FSH), prolactin, total and free testosterone, estradiol, globulin, binding sex hormones was determined. Genetic tests included the study of the karyotype and the determination of the azoospermia factor.

Results. In factor analysis, three factors were identified, that is, three sets of hormonal and clinical indicators that affect the outcome of an open testicular biopsy. It turned out that the explained variance reached 85%, and the individual significance of the third factor was highly informative. "Artificial neural network" allowed to reveal the factors influencing the frequency of detection of spermatozoa with open testicular biopsy.

Conclusions. The outcome of testicular biopsy in patients with azoospermia is influenced by three groups of factors: the first – FSH and LH, the second – prolactin and age, the third – the age and total testosterone. The artificial neural network revealed the predictors of testicular sperm extraction (TESE) outcomes, which are a combination of clinical (the presence of an operation for varicocele in the past, the age of a patient older than 30 years), endocrine (high FSH), and genetic factors (Klinefelter syndrome, AZFc microdeletions).

Key words: infertility, azoospermia, factor analysis, artificial neural network, open testicular biopsy.

For citation: Toropov V.A., Borovets S.Yu., Tkachuk V.N. The prediction of outcomes of the testicular biopsy in patients with azoospermia using clinical, endocrine and genetic factors. Consilium Medicum. 2017; 19 (7): 83–85. DOI: 10.26442/2075-1753_19.7.83-85

Введение

Азооспермия – отсутствие сперматозоидов и клеток сперматогенеза в эякуляте, является показанием к выполнению биопсии яичка. Распространенность азооспермии в популяции всех мужчин составляет 1%, среди бесплодных мужчин – 10–15% [1–3].

Азооспермия связана с рядом необратимых нарушений работы тканей яичек (клеток Лейдига, клеток Сертоли),

приводящих к угнетению сперматогенеза [4]. Выделяют обструктивную и необструктивную азооспермию [3]. Причиной азооспермии могут быть различные клинические, эндокринные, генетические и другие факторы [3]. Однако в какой степени каждый из них влияет на повреждение сперматогенного эпителия, приводящее к полной блокаде процессов сперматогенеза, изучено недостаточно.

Факторы прогноза исходов биопсии яичка и их атрибуты			
Атрибуты	Факторы		
	1	2	3
Фолликулостимулирующий гормон	0,951	0,050	0,024
Возраст	-0,109	-0,734	-0,418
Лютеинизирующий гормон	0,941	0,098	0,100
Общий тестостерон	0,072	0,034	0,953
Пролактин	0,051	0,896	-0,144

Цель исследования – выявление клинических, эндокринных и генетических факторов и определение их индивидуальной информативной значимости влияния на частоту обнаружения сперматозоидов при открытой биопсии яичка (testicular sperm extraction – TESE) у больных с азооспермией.

Пациенты и методы

Обследованы 44 мужчины, страдающие необструктивной азооспермией, в возрасте от 20 до 55 лет (в среднем $34,5 \pm 2,3$ года). Всем больным производили клинико-инструментальное обследование, включающее сбор анамнеза, осмотр и пальпацию органов мошонки, ультразвуковое исследование органов мошонки, в том числе в режиме цветного доплеровского картирования. Гормональные исследования включали определение в плазме крови: лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), пролактина, общего тестостерона, свободной фракции тестостерона, эстрадиола, глобулина, связывающего половые гормоны.

Генетические тесты включали исследование кариотипа и определение фактора азооспермии методами цитогенетического обследования и полимеразной цепной реакции с праймерами соответственно.

Критериями исключения из исследования были: сахарный диабет (тип 1 и 2), экскреторная азооспермия, варикоцеле (II и более стадии), тяжелые соматические заболевания, прием в последние 6 мес гормональных препаратов, цитостатиков, острые воспалительные заболевания мочеполовых органов, инфекционный паротит в анамнезе.

Всем пациентам проводили открытую биопсию яичка (TESE), для чего выполняли поперечный разрез кожи мошонки длиной 2,0 см, разрез мясистой и влажной оболочек яичка; интрапаренхиматозно в ткань яичка вводили 1,0 мл 1% раствора лидокаина в место предполагаемого разреза белочной оболочки яичка для облегчения получения ткани. После этого надсекали белочную оболочку на 1,0 см, затем аккуратно надавливали на яичко для экструзии фрагмента его паренхимы, размер которого составлял приблизительно 5×5 мм. Затем от него отсекали острыми ножницами 2–3 фрагмента ткани яичка, которые отправляли на срочное интраоперационное цитологическое исследование для обнаружения сперматозоидов. Белочную оболочку ушивали непрерывным двухрядным швом с использованием викрила.

С целью статистического анализа полученных данных использовали факторный анализ и алгоритм построения «нейронных сетей». Факторный анализ применяли для определения независимых групп взаимосвязанных количественных (измеряемых) атрибутов, оказывающих влияние на частоту обнаружения сперматозоидов в биоптатах яичка при TESE. При факторном анализе атрибутами были эндокринные показатели. Группировку атрибутов выполняли при помощи наиболее часто применяемого в факторном анализе метода главных компонент. Тест сферичности Бартлетта применяли с целью выявления корреляций между атрибутами (эндокринными показателями), что свидетельствует о справедливости и возможности использования самого факторного анализа. С этой же целью использовали также критерий адекватности Кайзера–Мейера–Олхина (КМО) [5].

Использовали и алгоритм построения «нейронной сети» – новый метод статистического анализа, с помощью которого становится возможным не только определить индивидуальную значимость каждого из факторов, влияющего на исходы TESE, но и создать программный алгоритм вычисления вероятности наличия/отсутствия сперматозоидов в биоптатах яичка [6].

Результаты

При оценке эндокринных факторов расчетное значение теста Бартлетта оказалось менее 0,05, что подтвердило целесообразность проведения факторного анализа. Значение КМО оказалось больше 0,5, что также свидетельствует о достоверности факторного анализа и возможности его использования в группе исследуемых нами больных.

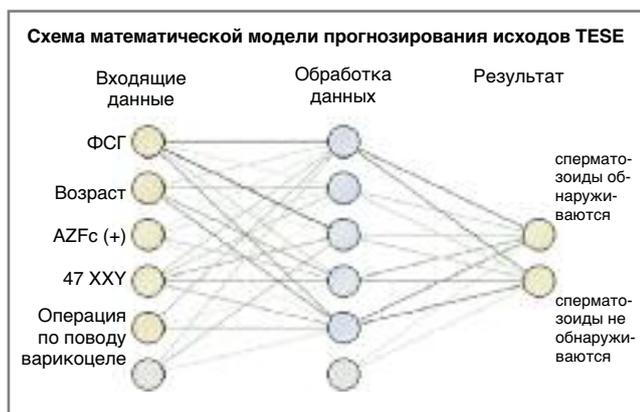
Программным способом были определены 3 фактора (1-й – ФСГ и ЛГ, 2-й – пролактин и возраст, 3-й – возраст и общий тестостерон), т.е. три совокупности показателей – гормональных и клинических, влияющих на исходы TESE. При этом объясненная дисперсия достигла 85%, а индивидуальная значимость 3-го фактора достаточно информативна (его собственное число почти равно 1).

После применения метода главных компонент мы получили набор факторов и значений индивидуальных факторных нагрузок каждого из компонентов. Эти сведения приведены в таблице.

Считается, что минимальной значимой факторной нагрузкой является значение 0,4. Сильными связями для каждого из факторов обладают атрибуты с факторной нагрузкой более 0,7. Мы выделяли жирным шрифтом наиболее значимые атрибуты (компоненты), входящие в состав факторов.

Первый фактор определяется двумя атрибутами – ФСГ и ЛГ, их совокупная факторная нагрузка очень высока, а наибольшую индивидуальную факторную нагрузку имеет ФСГ. Положительный полюс (высокое значение) данного фактора характеризуется высокими значениями ФСГ и ЛГ, а отрицательный полюс – низкими. Таким образом, при повышенных значениях ФСГ, ЛГ имеет место низкая вероятность обнаружения сперматозоидов. Второй фактор определяется двумя другими атрибутами – возрастом и уровнем пролактина. Положительный полюс этого фактора соответствует высокому значению пролактина и небольшому возрасту, а отрицательный полюс – большому возрасту и низкому уровню пролактина. Следовательно, при высоком значении пролактина и молодом возрасте (до 30 лет) вероятность обнаружения сперматозоидов в биоптатах яичка низкая. Определяющим атрибутом 3-го фактора является уровень общего тестостерона, зависящий от возраста (имеется слабая связь между этими компонентами фактора). В итоге оказалось, что связь возраста со 2-м фактором сильная, а с 3-м – слабая. Положительный полюс – высокое значение общего тестостерона и небольшой возраст (до 30 лет). Отрицательный полюс – низкое значение общего тестостерона и большой возраст. То есть при большом возрасте (старше 30 лет) и низком значении тестостерона вероятность обнаружения сперматозоидов низкая.

Далее нами был использован новый современный метод статистического анализа – построение алгоритма «нейронная сеть». Этот метод позволил выявить факторы, влияющие



щие на частоту обнаружения сперматозоидов при TESE, которыми в нашем исследовании явились: уровень ФСГ, возраст, наличие микроделеций AZFc (фактор азооспермии), синдром Клайнфельтера (кариотип 47 XXY), наличие в анамнезе операции по поводу варикоцеле. С использованием нейронной сети нами была создана математическая модель прогнозирования исходов TESE, которая схематично представлена на рисунке.

«Нейронная сеть» предсказала наличие сперматозоидов в биоптатах у 18 (64,29%) из 28 больных, тогда как предсказала их отсутствие – у 11 (68,75%) из 16 больных. Чувствительность метода – 52,38%; специфичность метода – 78,26%; суммарная точность предсказания – 65,34%.

Обсуждение

Существует взаимосвязь генетических и эндокринных факторов мужского бесплодия. При синдроме Клайнфельтера (первичный гипогонадизм) имеет место низкий уровень тестостерона при повышенном уровне ФСГ и ЛГ. При клеточном синдроме Сертоли и генетических аномалиях (трисомия, аутосомные аномалии, делеция Y-хромосомы), а также крипторхизме, системных заболеваниях имеются аплазия/гипоплазия зародышевых клеток или блокада сперматогенеза при нормальном уровне тестостерона и ЛГ, при повышенном уровне ФСГ. При синдроме Райфенштайна (частичная андрогенрезистентность) отмечается повышение уровня тестостерона и ЛГ, при нормальном или повышенном уровне ФСГ.

Делеции AZFc (и частично AZFb) связаны с успешным поиском сперматозоидов примерно в 50% случаев, а в случае наличия у пациента полной делеции AZFa или AZFb (или AZFb+c) вероятность нахождения зрелых сперматозоидов фактически равна нулю [7, 8]. У 8% мужчин с немозаичным синдромом Клайнфельтера сперматозоиды присутствуют в эякуляте. У них обычно имеет место криптозооспермия или тяжелая форма олигозооспермии с нарушениями подвижности и морфологии сперматозоидов [9]. Методом microTESE у пациентов с немозаичным вариантом синдрома Клайнфельтера вероятность получения сперматозоидов составляет от 56 до 69% [10, 11].

Тестостерон вырабатывают клетки Лейдига под действием ЛГ, последний оказывает биологическое действие на сперматогенез через андрогеновые рецепторы, расположенные на клетках Сертоли [12]. Тестостерон частично обеспечивает созревание сперматоцитов, играет важную роль в превращении округлых сперматид в удлиняющиеся [13]. Известно, что ФСГ и тестостерон действуют как антиапоптотические факторы, регулируя каскад реакций, приводящий к активации генов апоптоза, в значительно меньшей степени эти гормоны регулируют процессы пролифе-

рации [14]. Общеизвестно, что концентрация тестостерона в крови у мужчины с возрастом снижается – естественный процесс старения мужского организма.

Концентрация пролактина у мужчины физиологически может увеличиваться во время глубокого сна, при физической нагрузке, стрессе [15].

Выводы

- По результатам факторного анализа на исходы биопсии яичка у больных с азооспермией оказывают влияние три группы факторов: 1-й – ФСГ и ЛГ, 2-й – пролактин и возраст, 3-й – возраст и общий тестостерон; наиболее значимым компонентом, оказывающим «ключевое» влияние на результаты TESE, является ФСГ.
- Вероятность обнаружения сперматозоидов низкая:
 - при высоких показателях ФСГ и ЛГ;
 - при высоком уровне пролактина, особенно у больных молодого возраста;
 - при низком уровне общего тестостерона, особенно у молодых пациентов (до 30 лет).
- «Нейронная сеть» выявила предикторы исходов TESE, которыми являются совокупность клинических (наличие операции по поводу варикоцеле в прошлом, возраст больного старше 30 лет), эндокринных (высокий ФСГ) и генетических факторов (наличие синдрома Клайнфельтера, микроделеций AZFc).
- Использование программы «нейронная сеть» позволило разработать математическую модель, позволяющую прогнозировать частоту обнаружения сперматозоидов в биоптатах яичка при TESE в 65,34% случаев.

Литература/References

- Aziz N. The importance of semen analysis in the context of azoospermia. Clinics (Sao Paulo) 2013; 68 (1): 35–8.
- Esteves SC, Miyaoka R, Agarwal A. An update on the clinical assessment of the infertile male. Clinics (Sao Paulo) 2011; 66: 691–700.
- Витязева И.И. Современные подходы к лечению азооспермии методом микро-TESE в программе ЭКО/ИКСИ. Обзор литературы. Часть II. Проблемы эндокринологии 2013; 59 (5): 47–60. / Vitiazeva I.I. Sovremennye podkhody k lecheniu azoospermii metodom mikro-TESE v programme EKO/IKSI. Obzor literatury. Chast' II. Problemy endokrinologii 2013; 59 (5): 47–60. [in Russian]
- Esteves SC, Agarwal A. The azoospermic male: current knowledge and future perspectives. Clinics (Sao Paulo) 2013; 68 (1): 1–4.
- Шуметов В.Г., Шуметова Л.В. Факторный анализ: подход с применением ЭВМ. Орен: ОренГТУ, 1999. / Shumetov V.G., Shumetova L.V. Faktorniy analiz: podkhod s primeneniem EVM. Orel: OrelGTU, 1999. [in Russian]
- Хайкин С. Нейронные сети: полный курс. 2-е изд. М.: Вильямс, 2006. / Khaikin S. Neironnyye seti: polnyi kurs. 2-e izd. M.: Vil'iams, 2006. [in Russian]
- Krausz C, Quinтана-Murci L, McElreavey K. Prognostic value of Y deletion analysis: What is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis? Hum Reprod 2000; 15 (7): 1431–4.
- Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. Hum Mol Genet 1996; 5 (7): 933–43.
- Selice R, Di Mambro A, Garolla A et al. Spermatogenesis in Klinefelter syndrome. J Endocrinol Invest 2010; 33: 789–93.
- Yarali Hakan. TESE–ICSI in patients with non-mosaic Klinefelter syndrome. RBM Online 2009; 18 (6): 756–60.
- Schiff JD, Palermo GD, Veeck LL et al. Success of testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in men with Klinefelter syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90 (11): 6263–7.
- Wahlström T, Huhtaniemi I, Hovatta O, Seppälä M. Localization of luteinising hormone, follicle-stimulating hormone, prolactin, and their receptors in human and rat testis using immunohistochemistry and radio receptor assay. J Clin Endocrinol Metab 1983; 57: 825–30.
- Tesarik J, Martinez F, Rienzi L et al. In-vitro effects of FSH and testosterone withdrawal on caspase activation and DNA fragmentation in different cell types of human seminiferous epithelium. Hum Reprod 2002; 17 (7): 1811–9.
- Chausiaux OE, Abel MH, Baxter FO et al. Hypogonadal mouse, a model to study the effects of the endogenous lack of gonadotrophins on apoptosis. Biol Reprod 2008; 78 (1): 77–90.
- Калинченко С.Ю. Мифы и правда о гиперпролактинемии. Избранные лекции. М.: Практическая медицина, 2014. / Kalinchenko S.Iu. Mify i pravda o giperprolaktinemii. Izbrannyye lektsii. M.: Prakticheskaya meditsina, 2014. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Торопов Виктор Александрович – аспирант каф. урологии с курсом урологии с клиникой ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. И.П.Павлова». E-mail: toropov-1990@mail.ru

Борозец Сергей Юрьевич – д-р мед. наук, проф. каф. урологии с курсом урологии с клиникой, ст. науч. сотр. НИЦ урологии НИИ хирургии и неотложной медицины ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. И.П.Павлова». E-mail: sborozets@mail.ru

Ткачук Владимир Николаевич – д-р мед. наук, проф. каф. урологии с курсом урологии с клиникой ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. И.П.Павлова», засл. деятель науки РФ. E-mail: urolog.kaf@mail.ru