

УДК 616.697+616.581:616-018:616-076

© Т. Г. Филоненко, Е. Ю. Бабушкин, 2012.

ЗНАЧЕНИЕ БИОПСИИ ЯИЧКА В ДИАГНОСТИКЕ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ

Т. Г. Филоненко, Е. Ю. Бабушкин

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И.Георгиевского», г.Симферополь, АР Крым, Украина.

THE ROLE OF TESTICULAR BIOPSY IN THE DIAGNOSTICS OF MALE INFERTILITY

T. G. Filonenko, E. Yu. Babushkin

SUMMARY

For the estimation of the state of spermatogenesis investigated testicular biopsy specimens of 39 men 26-40 years old with a diagnosis azoospermia. It is exposed, that the prevailing factor of male infertility is non-obstructive form of azoospermia, attended with the arrest of germ cells on the different levels of spermatogenesis. Absence of spermatogenesis is certain in 5,11% cases, that testifies to impossibility of extraction of spermatozoa for the subsequent use of ICSI. Safe spermatogenesis is determined in 20,51% cases of male infertility, that is important in diagnostics of obstructive form of azoospermia and subsequent choice of treatment's tactic.

РОЛЬ БІОПСІЇ ЯЄЧКА В ДІАГНОСТИЦІ ЧОЛОВІЧОГО БЕЗПЛІДДЯ

Т. Г. Філоненко, Є. Ю. Бабушкін

РЕЗЮМЕ

Для оцінки стану сперматогенезу досліджували в 39 біоптатах яєчок у чоловіків 26-40 років з діагнозом азооспермія. Виявлено, що переважальним чинником чоловічого безпліддя є необструктивна форма азооспермії, що супроводжується арештом дозрівання зародкових клітин на різних рівнях сперматогенезу. Відсутність сперматогенезу відзначено в 5,11% випадків, що свідчить про неможливість екстракції сперматозоїдів для подальшого проведення ІКСІ. Збережений сперматогенез визначається в 20,51% випадків безпліддя, що є важливим у діагностиці обструктивної форми азооспермії і подальшому виборі тактики лікування.

Ключевые слова: бесплодие, биопсия яичка, диагностика.

Проблема мужского бесплодия, которое развивается вследствие ряда заболеваний или суммарных патологических воздействий на репродуктивную систему мужчин, является весьма актуальной в настоящее время во всем мире. Его патогенез, структура, диагностика продолжают оставаться предметом многих дискуссий [2,3,8,12].

Статистика ВОЗ из года в год предоставляет неутешительную информацию о том, что в 45% случаев бесплодных пар «виновником» является мужчина, а в 40% - женщина, оставшиеся случаи связаны с несовместимостью партнеров [11]. Многообразие факторов, приводящих к мужскому бесплодию, возможность их сочетания затрудняют выбор необходимых методов диагностики и лечения. Восстановление репродуктивной функции растягивается во времени и негативно отражается на эффективности лечения [4,5,7,13].

К наиболее тяжелым причинам мужского бесплодия относится азооспермия, проявляющаяся отсутствием сперматозоидов в эякуляте. По данным разных авторов это состояние может быть выявлено у 10% бесплодных пациентов [1,2,12,13,18]. Следует дифференцировать обструктивную азооспермию, когда сперматозоиды из яичка и придатка не попада-

ют в сперму вследствие обструкции семявыносящих путей и необструктивную, когда сперматозоиды не вырабатываются или не созревают должным образом. Обструктивная азооспермия обычно развивается на фоне хронических воспалительных заболеваний, вызывающих облитерацию просвета семявыносящих путей, в редких случаях - в результате врожденной аномалии семявыносящих путей. При этом отсутствует весь семявыносящий проток или часть его, либо нарушена связь между канальцами яичка и протоком придатка. Причинами необструктивной азооспермии могут быть гормональные нарушения, двустороннее варикоцеле, лучевая нагрузка, опухолевые процессы в яичках, в результате проведения химиотерапии и др. Остановка развития герменативных клеток также может быть вызвана генетическими факторами, такими как трисомия, аутосомные аномалии (транслокации, инверсии) или делеции в Y-хромосоме (Yq11) [13]. Дифференцировать эти патологические процессы может помочь только проведение морфологического исследования биоптата яичка, позволяющее определить патологию и уровень повреждения сперматогенеза [1,4,18,19]. Проведение биопсии яичка приобретает все большее значение не только в диагностическом плане, но и

как один из методов лечения. Внедрение в клиническую практику метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ, ICSI от англ. Intra Cytoplasmic Sperm Injection) позволяет успешно достигать деторождения от мужчин с самыми тяжелыми формами бесплодия, в том числе с азооспермией [6,9,10,12,16,17]. И только биопсия яичек может дать ответ на вопрос: присутствуют ли у пациента герминогенные клетки, которые можно использовать для криоконсервации и последующих процедур ИКСИ? Сохранен ли сперматогенез, необходимый для выполнения реконструктивных операций на семявыносящих путях?

Цель исследования: определить состояние сперматогенеза в биоптатах яичек у мужчин с азооспермией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал для морфологического исследования - 39 биоптатов яичка, взятых у мужчин 26-40 лет с диагнозом азооспермия.

Участки ткани яичка размером 0,3x0,3см фиксировали 10% забуференным формалином, заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной 5 мкм с последующей обзорной окраской гематоксилином и эозином, гистохимической окраской для визуализации соединительной ткани с применением пикриновой кислоты и кислого фуксина (Ван Гизон) по стандартной методике. В результате гистохимической реакции коллагеновые волокна окрашивались в красный цвет. Фотографирование осуществляли цифровой камерой OLYMPUS C 5050Z, установленной на микроскопе OLYMPUS CX 41. Подсчет клеток осуществляли с помощью программы DP SOFT и статистических методов исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для морфологической оценки ткани яичка использовали систему гистологического счета, описанную S.G. Johansen и модифицированную De Kretser and Holstein, согласно рекомендациям Европейского урологического общества (табл.1) [17].

В первую очередь обращали внимание на количество семенеформных канальцев, которых в среднем определяется в биоптате $50,5 \pm 0,002$, их форму, соотношение зародышевых клеток и клеток Сертоли, состояние базальных мембран и стромы, наличие клеток Лейдига, фиброз и гиалиноз.

Нормальный сперматогенез определяли в 20,51% случаях, что соответствовало 10 баллам по шкале Johansen. При этом семенные канальцы имеют тонкую базальную мембрану и последовательно расположенный сперматогенный эпителий. На внутренней стороне базальной мембраны располагаются сперматогонии, сперматоциты первичные и вторичные, единичные клетки Сертоли, группы сперматид и зрелых сперматозоидов. В некоторых канальцах сперматогенный эпителий частично десквамирован и располагается хаотично (показатель - 9 баллов). Имеет место

очаговая гиперплазия клеток Лейдига, локализующаяся в межканальцевой зоне.

Ослабленный сперматогенез наблюдали в 23,07% случаев (показатели – 9-8 баллов). При этом клеточный состав зародышевых клеток уменьшен на всех стадиях развития сперматогенеза. В строме отмечается очаговый фиброз и лимфогистиоцитарная инфильтрация. Такая морфологическая картина наблюдается при обтурационной азооспермии. В 41,01% случаев обнаруживали необструктивную азооспермию, связанную с нарушением развития сперматогенеза на каком то из этапов сперматогенеза. Из них у 17,95% пациентов наблюдали блокаду развития зародышевых клеток на уровне сперматид (6 и 7 баллов), на уровне сперматоцитов в 15,36% случаев (4 и 5 баллов), 7,70% на уровне сперматогониев (3 балла) (рис. 1).

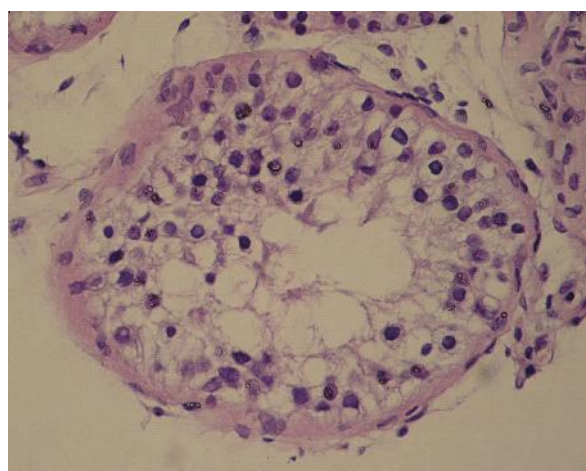


Рис. 1. Блок созревания сперматогенеза на уровне сперматоцитов (5 баллов согласно гистологическому счету Johansen). Окр. гематоксилин и эозин, x400.

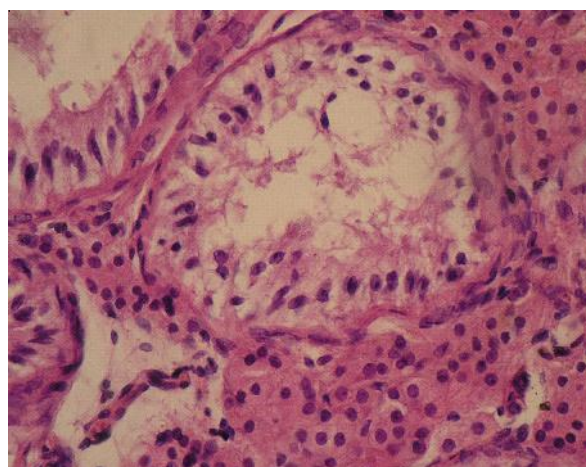


Рис. 2. Полный Сертоли – клеточный синдром (2 балла согласно гистологическому счету Johansen). Гиперплазия клеток Лейдига. Окр. гематоксилин и эозин, x400.

Критерии гистологического счета согласно модифицированной шкале Johansen

Показатель в баллах	Критерии нарушения сперматогенеза	n	%
10	Нормальный сперматогенез, < 10 сперматозоидов в канальце	8	20,51
9	Хаотичное расположение сперматогенных клеток (дезорганизация), < 20 зрелых сперматид	4	10,25
8	> 5 сперматозоидов в канальце, >20 зрелых сперматид	5	12,82
7	Отсутствуют сперматозоиды и зрелые сперматиды, < 20 незрелых сперматид	3	7,70
6	Отсутствуют сперматозоиды и зрелые сперматиды, единичные незрелые сперматиды	4	10,25
5	Отсутствуют сперматозоиды и сперматиды, много сперматоцитов	4	10,25
4	Отсутствуют сперматозоиды и сперматиды, единичные сперматоциты	2	5,11
3	Отсутствуют сперматозоиды, сперматиды и сперматоциты; присутствуют только сперматогонии	3	7,70
2	Отсутствуют зародышевые клетки; присутствуют только клетки Сертоли	4	10,25
1	Отсутствуют зародышевые клетки; присутствуют единичные дегенерирующие клетки Сертоли	2	5,11
	Всего	39	100,00

Полный Сертоли-клеточный синдром (2 балла), т.е. присутствие только клеток Сертоли в канальцах, отмечался в 10,25% случаев. Гистологически диаметр

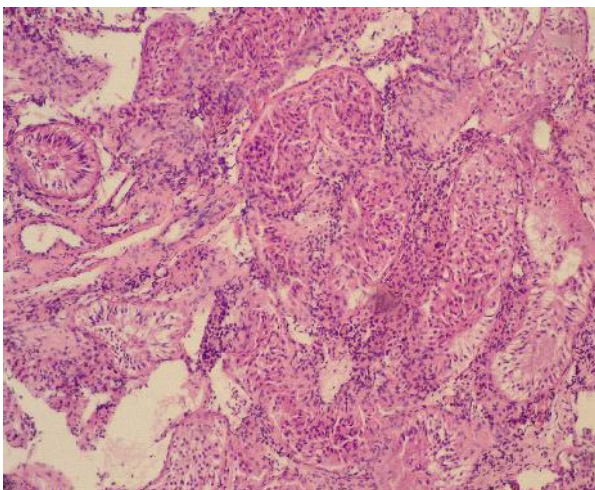


Рис.3. Фиброз семеневормных канальцев и интерстиция, лимфогистиоцитарная инфильтрация (1 балл согласно гистологическому счету Johansen). Гиперплазия клеток Лейдига. Окр. Гематоксилин и эозин, x200.

семенных канальцев уменьшен, зародышевые клетки отсутствуют. Иногда в некоторых семенных канальцах сохранялось некоторое количество зародышевых клеток. Базальные мембраны таких канальцев несколько утолщены. В интерстиции – гиперплазия клеток Лейдига (рис.2).

Фиброз и гиалиноз канальцев, атрофия определялись только в 5,11% случаях (1 балл). При гистологическом исследовании канальцы резко уменьшены в диаметре, базальная мембрана утолщена. В просвете канальцев зародышевые клетки отсутствуют или обнаруживаются единичные дегенеративные клетки Сертоли. В строме - фиброз и лимфогистиоцитарная инфильтрация с уменьшенным содержанием клеток Лейдига (рис.3).

Таким образом, анализ полученных нами результатов выявил, что преобладающим фактором бесплодия является необструктивная форма азооспермии, при котором уровень ареста созревания сперматозоидов определяется на различных стадиях развития зародышевых клеток от сперматогоний до сперматид (показатели – от 3 до 7 баллов согласно гистологическому счету Johansen). И этот уровень достаточно высок по сравнению с другими исследования-

ми [10,12,18], что свидетельствует об увеличении роли как генетических факторов необструктивной азооспермии, так и экзогенных воздействий на сперматогенез.

Наличие очагового и тотального Сертоли-клеточного синдрома составил 10,25% (показатель – 2 балла согласно гистологическому счету Johensen), что согласуется со многими зарубежными исследователями [12,18]. Во многих случаях этиология аплазии зародышевых клеток неизвестна, но часто связывают с крипторхизмом, приемом цитотоксических препаратов, или облучения, эмбриопатиями. Некоторые авторы отмечают роль кровного родства [2] и генетического фактора. Генетическая область, управляющая сперматогенезом в организме человека - человеческий фактор азооспермии (AZF) находится в длинном плече Y-хромосомы, и нарушения сперматогенеза были зарегистрированы у мужчин с делециями, соответствующими области AZF [14]. Поэтому использование сперматозоидов у таких мужчин в программе ИКСИ чревато развитием генетической патологии у потомства.

Благоприятный прогноз имеют мужчины с сохраненным сперматогенезом, характерным для обструктивной азооспермии (20,51%). Несмотря на то, что сперматозоиды не выходят из яичка или придатка, сперматогенез у таких больных может сохраняться в течение длительного времени благодаря компенсаторным механизмам, что дает возможность проведения экстракции сперматозоидов с последующим эффективным проведением ИКСИ.

Учитывая результаты анализа научной информации и проведенного нами гистологического исследования можно с уверенностью утверждать, что в настоящее время проведение биопсии яичка является необходимым не только в плане диагностики состояния сперматогенеза, но и является обязательным в программе ЭКО-ИКСИ пациентов с необструктивными формами бесплодия.

ВЫВОДЫ

1. Преобладающим фактором мужского бесплодия является необструктивная форма азооспермии, сопровождающаяся арестом созревания на разных уровнях сперматогенеза.

2. Отсутствие сперматогенеза определено в 5,11% случаев, что свидетельствует о невозможности экстракции сперматозоидов для последующего проведения ИКСИ.

3. Сохранный сперматогенез определяется в 20,51% случаев бесплодия, что является важным в диагностике обструктивной формы азооспермии и последующего выбора тактики лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бреслер В.М. Причины мужской стерильности по данным биопсии / В.М. Бреслер и др. // Урология и нефрология. – М., 1985. – № 1. – 32-36.

2. Быков В.Л. Сперматогенез у мужчин в конце XX века / В.Л. Быков // Проблемы репродукции. – М.,

2000. – № 1. – 6-13.

3. Гаспаров А.С. Репродуктивное здоровье. Бесплодие как медико-социальная проблема / А.С. Гаспаров, Т.А. Назаренко // Практическое руководство. – М., 2000. – 56 с.

4. Гоголевский П.А. Использование сперматид в процедуре ЭКО/ ИКСИ / П.А. Гоголевский // Проблемы репродукции. – М., 1998. – № 2 – С. 5-11.

5. Корякин, М.В. Анализ причин мужского бесплодия / М.В. Корякин, А.С. Акоюн // Проблемы репродукции. – М., 2000. – № 5. – С. 48-53.

6. Курило Л.Ф. Оценка сперматогенеза по незрелым половым клеткам / Л.Ф. Курило и др. // Проблемы репродукции. – М., 1995. – № 3. – С.33-38.

7. Лоран О.Б. Вспомогательные репродуктивные технологии в урологии / О.Б.Лоран, А.С.Сегал, Д.Ю. Пушкарь и др. // Урология. – 2001. – № 4. – С. 39-42.

8. Тер-Аванесов Г.В. Фертильность мужчин в XXI веке / Г.В. Тер-Аванесов // Андрология и генитальная хирургия. – М., 2000 – 32 с.

9. Aboulghar M.A. The role of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in treatment of patients with borderline semen / M.A. Aboulghar et al. // Hum.Reprod. – 1996. – № 10. – P. 2829-2830.

10. Al-Hasani, S. Intracytoplasmic injection of round and elongated spermatids from azoospermia patients: results and review / S. Al-Hasani et al. // Hum. Reprod. – 1999. – Vol. 14. – P. 97-107.

11. Altay B. The effects of female age on the outcome of testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in infertile patients with azoospermia / B. Altay et al. // Int. Urol. Nephrol. – 2002. – № 33(1). – P. 95-99.

12. Al-Rayess M.M. Morphologic patterns of male infertility in Saudi patients University Hospital experience / M.M. Al-Rayess, A.C. Al-Rikabi // Saudi Medical Journal – 2000. – Vol. 21. – №7. – P.625-628.

13. Bancroft J. Male infertility / J. Bancroft // Brit. Med. J. – 2001. – Vol. 290. – P. 1417-1422.

14. Carrara R, Yamasaki R, Mazucatto LF, et al; Somatic and germ cell cytogenetic studies and AZF microdeletion screening in infertile men. Genet. Mol. Biol. vol.27 no.4 Sao Paulo 2004

15. Zhu P.Y. Isolation and identification of spermatids in semen of male infertile patient / P.Y. Zhu et al. // Zhonghua Nan Ke Xue. – 2002 – № 8(6). – P. 404-407.

16. Zhao Y. Impact of semen characteristics on the success of intrauterine insemination/ Y. Zhao et al. // J. Assist. Reprod. Genet. – 2004. – № 21(5). – P.143-148.

17. Johnsen S.G. Testicular biopsy score count - a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 325 hypogonadal males/ S.G. Johnsen // Hormones – 1970. – № 24. – P. 123-130

18. Thomas J.O. Histological pattern of testicular biopsies in infertile males in Ibadan, Nigeria / J.O. Thomas // East African Medical Journal – 1990. – № 67. – P. 578-584.

19. Schoor R.A. The role of testicular biopsy in the modern management of male infertility / R.A. Schoor, S.Elhanbly et al. // J. urol. – 2002. – Vol. 167. – №1. – P. 197-200.