На правах рукописи

Кравцова Наталия Сергеевна

СТИМУЛЯЦИЯ СПЕРМАТОГЕНЕЗА ГОНАДОТРОПИНАМИ И АНТИЭСТРОГЕНАМИ ПРИ ПАТОЗООСПЕРМИИ И БЕСПЛОДИИ

14.01.02. – эндокринология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Москва - 2020 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: **Роживанов Роман Викторович**
доктор медицинских наук

Официальные оппоненты: **Воробьев Сергей Владиславович**
доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой эндокринологии
(с курсом детской эндокринологии)
ФГБОУ ВО "РОСТГМУ"
Минздрава России

Ефремов ЕвгенийАлександрович
доктор медицинских наук, заведующий отделом андрологии и репродукции человека НИИ Урологии и интервенционной радиологии им. Н.В. Лопаткина-Филиал ФГБУ "НМИЦ Радиологии" Минздрава России

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области "Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского".

Защита диссертации состоится 8 октября 2020 года на заседании диссертационного совета Д 208.126.01 в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России по адресу: 117036, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России https://www.endocrincentr.ru/

Автореферат разослан « » _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного Совета
доктор медицинских наук **Платонова Надежда Михайловна**

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования

На протяжении последних десятилетий проблема бесплодия остается одной из ведущих в современной медицине [Datta J., 2016]. В мире распределение бесплодия из-за мужского фактора варьируется от 20% до 70% [Agarwal A. Et al., 2015]. В России от 8 до 17% пар являются бесплодными, и за последние 20 лет наметилась стойкая тенденция к росту числа мужчин, страдающих бесплодием: их количество увеличилось до 50% (среди бесплодных пар) [Mascarenhas M. N., 2012]. При этом в большинстве случаев мужское бесплодие связано со снижением количества и качества сперматозоидов, что обуславливает необходимость применения методов лечения, направленных на улучшение качества эякулята, в частности, увеличение концентрации сперматозоидов.

На сегодняшний день для гормональной стимуляции сперматогенеза применяют: хорионический гонадотропин, ингибиторы ароматазы, антиэстрогены, к которым относится кломифена цитрат, и препараты рекомбинатного гонадотропина ФСГ (р-ФСГ) [Nieschlag E., 2010]. При этом недостаточно данных о возможности нормализации сперматогенеза с целью достижения спонтанной беременности на фоне разных видов стимулирующей терапии в различных группах пациентов с патоспермией и бесплодием. Изучение эффективности стимулирующей терапиикак самой по себе, так и как одного из этапов подготовки пациентов к использованию вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), недостаток и противоречивость данных по изучаемым проблемам является обоснованием предпринимаемой нами работы.

Цель работы

Оценка эффективности применения кломифена цитрата и комбинированного использования хорионического гонадотропина в сочетании с препаратом рекомбинантного ФСГ у мужчин с патозооспермией и бесплодием с пониженными или нормальными показателями уровней гонадотропинов.

Задачи исследования

1. Оценить частоту и патогенетические факторы мужского бесплодия.
2. Оценить эффективность использованиякломифена цитрата в сравнении с конкурирующим вмешательством - комбинированным использованием хорионического гонадотропина в сочетании с препаратом р-ФСГ у мужчин с олиготератозооспермией в отношении влияния на семиологические показатели эякулята и воссстановление фертильности.
3. Установить факторы, обуславливающие эффективность стимулирующей терапии.
4. Оценить эффективность комбинированной терапии гонадотропинами, в сравнении с отсутствием вмешательства в качестве подготовительного этапа перед вступлением в программу ВРТ.

Научная новизна исследования

Впервые в РФ на большой выборке оценена частота мужского фактора бесплодия, детально изучены его причины и патогенетические факторы. Установлено, что при высокой частоте мужского бесплодия эндокринный фактор является доминирующим и часто сопровождается олиготератозооспермией. Впервые прооведено открытое проспективное когортное исследование в параллельных группах с целью оценки эффективности кломифена цитрата и комбинированного использования хорионического гонадотропина в сочетании с препаратом рекомбинантного ФСГ для стимуляции сперматогенеза у мужчин с бесплодием. Установлено, что все исследованные виды стимулирующей терапии приводят как к повышению уровня тестостерона, так ик увеличению концентрации и качества сперматозоидов. Однако в отношении устранения главного фактора бесплодия - олиготератозооспермии и достижения спонтанного зачатия наиболее эффективна комбинированная терапия гонадотропинами (ХГЧ в сочетании с р-ФСГ). Разработаны реко-

мендации специалистов по лечению вышеуказанными препаратами. Установлено, что комбинированная терапия гонадотропинами может быть с успехом использована в случаях предшествующего неэффективного лечения кломифена цитратом. Установлено, что основным фактором, обуславливающим эффективность лечения, является устранение тератозооспермии, при этом позитивные изменения морфологии сперматозоидов на фоне лечения объясняются эффектом как экзогенного, так и индуцированного ФСГ – улучшением конденсации хроматина. Установлено, что использование стимулирующей сперматогенез терапии гонадотропинами на этапе подготовки к методам ВРТ повышает их эффективность - увеличиваетсячастота формирования бластоцист высокого качества и наступивших беременностей.

Теоретическая и практическая значимость исследования

На основании результатов исследования при диагностике причин мужского бесплодия рекомендовано комплексное обследование с обязательной оценкой эндокринного аспекта. Оценена эффективность и разработаны рекомендации по назначению кломифена цитрата и комбинированного использования хорионического гонадотропина в сочетании с препаратом рекомбинантного ФСГ для стимуляции сперматогенеза у мужчин. Как терапия старта рекомендуется лечение антиэстрогеном кломифена цитратом, учитывая ее достаточно высокую эффективность, дешевизну и простоту использования, особенно в случаях не резко выраженной олиготератозооспермии. В случаях выраженной олиготератозооспермии (тотальная тератозооспермия), а также при предшествующей неэффективности других видов стимуляции сперматогенеза, рекомендуется использование комбинированной терапии гонадотропинами (ХГЧ в сочетании с р-ФСГ). Используемая стимулирующая терапия должна проводиться 6 месяцев и включать обязательную оценку морфологии сперматозоидов высокоточными методами. Рекомендуется использовать стимулирующую терапию гонадотропинами при подготовке к применению ВРТ, что повышает их эффективность. Установлено, что исследованные

виды стимулирующей терапии не приводят к развитию нежелательных явлений (НЯ) и могут быть рекомендованы к использованию в амбулаторной практике.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Частота мужского бесплодия высока, а ведущими в патогенезе являются эндокринный и инфекционно-воспалительный факторы, сопровождающиеся олигоастенотератозооспермией.

2. Терапия олиготератозооспермии гонадотропинами эффективнее по сравнению с терапией кломифена цитратом.

3. Комбинированная терапия гонадотропинами может быть с успехом использована в случаях предшествующего неэффективного лечения кломифена цитратом.

4. При применении стимулирующей терапии позитивными изменениями морфологии сперматозоидов являются улучшение конденсации хроматина и уменьшение деградировавших форм сперматозоидов.

5. Применение стимулирующей терапии при подготовке к использованию ВРТ, повышает частоту образования бластоцист высокого качества и наступивших беременностей.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Работа выполнена на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (директор – академик РАН Дедов И. И.) с использованием клинического материала отделений Андрологии и урологии, Вспомогательных репродуктивных технологий, Стационарозамещающиих технологий. Апробация диссертации состоялась на совместном заседании сотрудников кафедры эндокринологии и научных сотрудников ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России 18 ноября 2019 года.

Результаты работы были доложены и обсуждены на Всероссийском конгрессе «Современные технологии в эндокринологии» (РФ, Москва, 23-26 ноября 2009); VI Российском конгрессе «Мужское здоровье» с международным участием

(РФ, Москва, 16-18 июня 2010); VII Всероссийском конгрессе эндокринологов "Достижения персонализированной медицины сегодня – результаты практического здравоохранения завтра" - РФ, Москва, 2-5 марта 2016; III Всеросийском эндокринологическом конгрессе с международным участием "Инновационные технологии в эндокринологии",-РФ, Москва, 1-4 марта 2017; II Всероссийской конференции с международным участием «Репродуктивное здоровье женщин и мужчин»,- РФ, Москва, 8-9 апреля 2017.

По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 7 входят в перечень отечественных рецензируемых журналов, рекомендуемых для публикации основных результатов исследований.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 91 странице машинописного текста, состоит из введения, 4-х глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и указателя литературы, включающего 23 отечественных и 82 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 3 рисунками, и 18 таблицами.

Материалы и методы исследования

Было обследовано 2140 супружеских пар, обратившихся первично в ФГБУ ЭНЦ Минздрава России в период с 2009 по 2017 год по поводу бесплодия, и прошедших клиническое обследование в отделении андрологии и урологии (зав. отд. проф., д. м. н. Курбатов Д. Г.); отделе стационарозамещающих технологий (зав. отд. к. м. н. Ульянова И. Н.); отделении вспомогательных репродуктивных технологий (зав. отд. к. м. н. Витязева И.И.) ФГБУ НМИЦ Эндокринологии Минздрава России. Исследование предполагало 3 этапа:

Этап 1 –одномоментное сплошное исследование бесплодных пар с целью определения частоты и основных патогенетических факторов мужского бесплодия.

Этап 2 - проспективное исследование с целью оценки эффективности кломифена цитрата по сравнению с конкурирующим вмешательством - комбиниро-

ванным использованием препарата ХГ в сочетании с препаратом р-ФСГ у мужчин с олиготератозооспермией.

Этап 3 - проспективное исследование с целью оценки эффективности комбинированной терапии препаратами ХГ и р-ФСГ по сравнению с отсутствием вмешательства в отношении увеличения частоты успешных попыток ВРТ.

На первом этапе не предполагалось формирование контрольной группы, в исследование были включены все бесплодные пары, обратившиеся за медицинской помощью. Второй этап исследования не предполагал формирование контрольной группы, так как препараты, используемые в исследовании, применялись в соответствии с официально зарегистрированными показаниями. Третий этап исследования требовал наличие контрольной группы, которая была сформирована из пациентов с олиготератозооспермией, не получавших стимулирующей терапии перед ВРТ. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

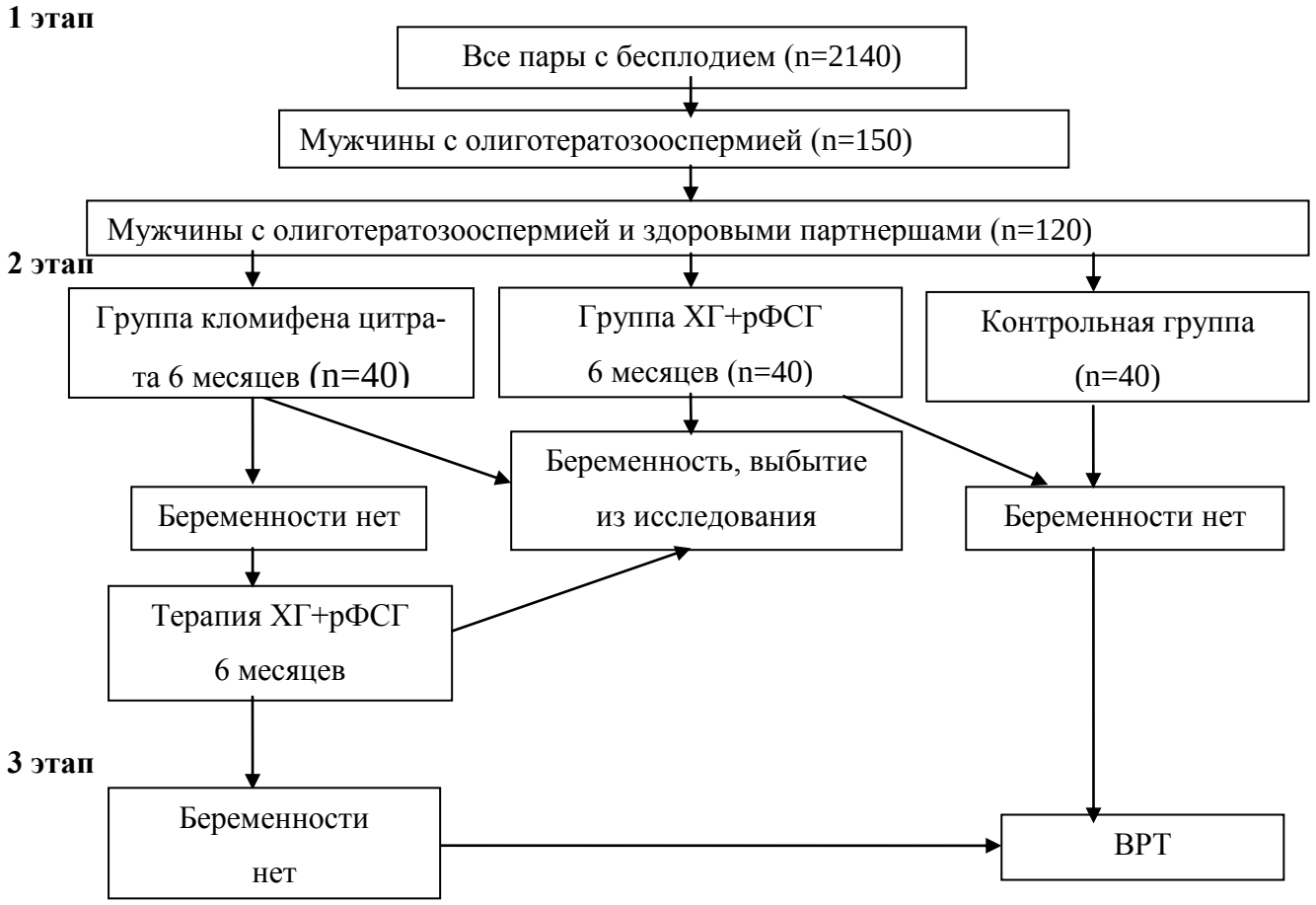

Рисунок 1. Дизайн исследования

Из выборки 2140 человек были отобраны мужчины, соответствующие критериям включения и не имевших состояний, расцениваемых как критерии исключения.

Критерии включения мужчин: отсутствие наступления беременности в паре в течение 1 года и более при регулярной половой жизни без использования средств и методов контрацепции, возраст 19 до 35 лет, олиготератозооспермия, наличие у партнерши условий для наступления спонтанной беременности.

Критерии исключения мужчин: Недееспособные субъекты, подозрение на серьезное психическое заболевание, наркоманию, алкоголизм согласно анамнезу и/или клиническому обследованию, наличие в анамнезе травм или хирургических вмешательств на половых органах, криптозооспермия, азооспермия, гипергонадотропный гипогонадизм, гипотиреоз, гиперпролактинемия, гиперкортицизм, сахарный диабет 1 и 2 типов, ожирение, нарушения кариотипа и половых хромосом, одновременное участие в другом клиническом исследовании, опухолевые заболевания, включая в анамнезе, варикоцеле, урогенитальные инфекции, воспалительные заболевания половых желез, бактериоспермия, лейкоспермия, носительство антиспермальных антител, подозрение на то, что пациент не готов следовать рекомендациям исследователя или медицинского персонала, использование не предусмотренных протоколом исследования методов половой реабилитации.

Критерии исключения женщин: наружный генитальный эндометриоз тяжелой формы, включая эндометриомы яичников, двусторонняя резекция яичников или единственного яичника, множественная миома матки с нарушением питания или деформацией полости матки, аномалия развития матки, толщина эндометрия менее 8 мм на 19-21 день менструального цикла, невынашивание беременности в анамнезе, множественные неудачные попытки ВРТ, опухолевые заболевания, включая в анамнезе, эндокринные заболевания: гипотиреоз, гиперпролактинемия, гиперкортицизм, СД 1 и 2 типов, ожирение, синдром поликистозных яичников.

Характеристики выборки мужчин, включенных в дальнейшие этапы исследования представлены в таблице2.

Таблица 2. Характеристики выборки мужчин, включенных в дальнейшееисследование(n=120)

Параметр	Значение
Возраст, лет	27[24;32]*
ИМТ, кг/м2	24,2[23,2;27,1]*
Дети в анамнезе, %	41
Объем яичек, мл	18[15;19]*
Тестостерон, нмоль/л	15,1[12,9;17,1]*
ЛГ, ЕД/мл	3,9[3,3;4,1]*
ФСГ, ЕД/мл	4,7[4,2;5,3]*
Ингибин В, пг/мл	55[23;109]*
Количество сперматозоидов, млн/мл	10[7;11]*
Подвижность А+В, %	18[14;23]*
% морфологически нормальных форм	2[0;3]*

Примечание: *Me[Q1;Q3]

Их этих пациентов было сформировано 3 группы сопоставимые по возрасту, наличию детей в анамнезе, уровням тестостерона, гонадотропинов и показателям сперматогенеза. Пациенты первой группы (группа кломифена цитрата, n=40) получали кломифена цитрат в дозе 50 мг перорально утром ежедневно. Пациенты второй группы (группа ХГ+рФСГ, n=40) получали комбинированную терапию препаратами Хорионического гонадотропинав индивидуально подобранной дозе, которая составила от 1000 до 3000 ЕД 1 раз в 3 дня внутримышечно и препарат р-ФСГ в дозе 75ЕД подкожно через день. Доза ХГЧ определялась путем оценки уровня общего тестостерона утром натощак после инъекции препарата (целевым значением являлось 20-33 нмоль/л). Эффективность лечения оценивалась через 6 месяцев. Под эффективностью терапии понималось наступление беременности у партнерши и/или устранение олиготератозооспермии. Больным с отсутствием зачатия после использования кломифена была назначена комбинированная терапия гонадотропинами сроком 6 мес. с дальнейшей оценкой эффективности лечения.

Всем больным с отсутствием зачатия на фоне стимулирующей терапиилечение бесплодия осуществлялось с использованием ВРТ. 40 человек составили группу контроля, не получавшую стимулирующей терапии перед ВРТ. Все этапы подготовки и ведения пациентов в протоколе осуществлялись в соответствии с Приказом Минздрава России №107н от 12 февраля 2013 года " О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению". Для оценки эффективностиэкстракорпорального оплодотворения оценивались следующие показатели: частота оплодотворения, частота формирования бластоцисты высокого качества, частота наступления клинической беременности, частота родов живыми детьми.

За время проведения исследования никто из пациентов не выбыл, все закончили полный курс планируемой терапии.

Этическая экспертиза

Исследование было одобрено на заседании локального этического комитета 22.09.2009 (выписка из протокола №19-09).

Специальные методы исследования

Все пациенты были обследованы по стандартной единой схеме, включающей сбор жалоб, данных анамнеза, анализ медицинской документации, клиническое обследование. Регистрировались следующиеданные: рост, вес, индекс массы тела, объем яичек, показатели уровней ЛГ, ФСГ, тестостерона, ингибина В, спермограммы. Ультразвуковоеисследование на аппарате GELodgiq 3 с использованием линейного датчика с частотой 10 МГц. При лабораторном обследовании проводилось определение уровней ЛГ, ФСГ, общего тестостерона и ингибина В в трех аликвотах сыворотки крови. Уровни ЛГ (2,5-11,0 ЕД/л), ФСГ (1,6-9,7 ЕД/л) и тестостерона (12,0-33,3 нмоль/л) определялись на автоматическом анализаторе Vitros 3600 (Johnson and Johnson (США) методом усиленной хемилюминесценции, а уровни ингибина В (25-325 пг/мл) методом иммуноферментного анализа с использованием наборов Beckman Coulter (США). Оценка качества эякулята осу-

ществлялась в соответствии с рекомендациями ВОЗ, 2010 г. путем световой микроскопии с помощью микроскопа Olimpus 41 CX (Япония) и камеры Маклера того же производителя. Спермограмму анализировали двукратно, оценивались показатели: количество сперматозоидов в 1 млн. эякулята (норма 15 млн. и более), количество морфологически нормальных форм (норма 4% и более (критерий Крюгера)), подвижность А+В (норма 40% и более). Забор эякулятата осуществлялся в одноразовые стерильные контейнеры Sarstedt (Австралия) путем мастурбации при половом воздержании 3-5 суток. Электронно-микроскопическое исследование эякулята (ЭМИС) осуществляли путем центрифугирования, этаноловой, далее эпоксидной фиксации клеток эякулята с дальнейшим электронным микроскопированием х16000-18000 для исследования органоидов и х20000-25000 для исследования жгутиков. Оценивались: число интактных головок (норма > 4%), содержание сперматозоидов с недостаточно конденсированным хроматином (норма <30%), содержание деградировавших сперматозоидов.

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка полученных данных была проведена с использованием пакета прикладных программ STATISTICA (Stat SoftInc. США, версия 8.0). Поскольку объемы выборок были не большими, а распределения признаков не являлись нормальными, сравнение по количественным признакам осуществлялось непараметрическим методом с использованием U-критерия Манна-Уитни для 2-хнезависимых групп, а также теста Вилкоксона – для 2-х зависимых групп. Сравнение групп по качественным признакам осуществлялось непараметрическим методом путем анализа таблиц сопряженности с использованием двухстороннего точного критерия Фишера для независимых групп. Статистически значимыми считали различия при $p<0,05$, а наличие статистической тенденции при $p< 0,1$. При множественных сравнениях проводился перерасчет уровня значимости p с применением поправки Бонферрони (перерасчитывались достигнутые уровни значимости). Результаты исследований представлены в виде медиан параметров, интерквартильного отрезка для количественных признаков, а также абсолютных

чисел ипроцентов с указанием 95%ДИ для бинарных признаков. 95% ДИ рассчитывался с использованием программного обеспечения ресурса www.graphpad.com/quickcalcs/confinterval1/ «Exact» confidenceintervals (метод Clopper и Pearson, Biometrica 26:404-413, 1934).

Результаты исследования

Мужской фактор бесплодиясуммарно выявлен в 77,1(95%ДИ 75,3-91,1)% случаев, женский – 83,7(95%ДИ 82,1-91,4)%. 2,0(95%ДИ 1,5-2,7)% составили пары с отсутствием беременности менее года и невыявленными факторами бесплодия.Факторы патогенеза мужского бесплодия представлены в таблице 3.

Таблица 3. Факторы патогенеза мужского бесплодия (n=1650)

Патогенетический фактор	%
Инфекционно-воспалительный фактор	31
Эндокринный фактор как основное заболевание	28
Эндокринный фактор как сопутствующее заболевание	15
Варикоцеле	17
Обструктивная азооспермия	6
Сексуальные и эякуляторные нарушения	5
Иммунный фактор	5
Генетический фактор	4
Врожденные аномалии половой сферы	3
Системные заболевания	2
Посттравматическаяпатология половой сферы	1
Ятрогенный фактор	1
Идиопатическая патозооспермия	2

Если рассматривать эндокринный фактор в целом (как основную и сопутствующую причину бесплодия), то он является доминирующим. Из эндокринных факторов мужского бесплодия наибольшую частоту демонстрирует гипогонадизм – 20,5(95%ДИ 11,1-22,5)%. Сочетание двух и более факторов бесплодия у пациентов выявлено в 44(95%ДИ 41,6-67,0)% случаев. Наибольшая доля мужчин имела

изолированную тератозооспермию (22,4(95%ДИ 20,6-24,2)%), также часто встречалась олигоастенотератозооспермия (17,7(95%ДИ 8,7-19,4)%) и астенотератозооспермия (19(95%ДИ 4,3-20,7)%).

Стимулирующая терапия оказывала разный эффект в зависимости от выбранного препарата. Результаты терапии препаратом кломифена цитрата представлены в таблице 4.

Таблица 4. Показатели эффективности стимулирующей терапии кломифеном цитратом

Параметр	Исходно (n=40)	6 мес (n=40)	p
Объем яичек, мл	19[16;20]	19[16;20]	1,0
Тестостерон, нмоль/л	16,3[13,2;17,3]	24,5[23,1;25,7]	**<0,001***
ЛГ, ЕД/мл	3,8[3,4;4,5]	6,1[4,9;6,8]	**<0,001***
ФСГ, ЕД/мл	4,6[4,1;5,3]	6,0[5,6;7,1]	**<0,001***
Ингибин В, пг/мл	58[23;94]	89[66;203]	**<0,001***
Количество сперматозоидов, млн/мл	10[8;12]	17[14;19]	**<0,001**
Подвижность А+В, %	18[14;19]	19[17;20]	0,56*
Морфологически нормальные формы, %	2[1;3]	4[3;5]	**0,002**

Примечание: Me[Q1;Q3], тест Вилкоксона; *применялась поправка Бонферрони.

Терапия кломифеном, наряду с увеличением уровня тестостерона, гонадотропинов и ингибина В, приводила не только к статистически значимому увеличению числа сперматозоидов в 1 мл эякулята, но и статистически значимому улучшению их морфологии. Препарат устранил олиготератозооспермию у 57,5 (95%ДИ 40,1-73,0)% пациентов (23 человек). Из них от 3-х мужчин наступила беременность, которая закончилась естественными родами здоровых детей. Эффективность терапии кломифеном в отношении наступления беременности составила 7,5 (95%ДИ 1,6-20,4)%. Терапия кломифена цитратом не сопровождалась нежелательными явлениями.

Лучшие результаты лечения отмечались при использовании комбинированной терапии гонадотропинами, таблица 5.

Таблица 5. Показатели эффективности стимулирующей терапии гонадотропинами

Параметр	Исходно (n=40)	6 мес (n=40)	p
Объем яичек, мл	17[15;20]	19[16;21]	0,072*
Тестостерон, нмоль/л	15,0[14,8;16,3]	25,8[24,6;26,5]	**0,030***
Ингибин В, пг/мл	52[19;86]	114[79;141]	**<0,001***
Количество сперматозоидов, млн/мл	9[7;10]	24[21;27]	**0,005**
Подвижность А+В, %	18[17;26]	21[20;25]	0,108*
Морфологически нормальные формы, %	2[0;2]	4[4;7]	**0,011**

Примечание: Me[Q1;Q3], тест Вилкоксона; *применялась поправка Бонферрони.

Комбинированная терапия гонадотропинами, наряду с увеличением уровня тестостерона и ингибина В, приводила к статистически значимому увеличению числа сперматозоидов в 1 мл эякулятаи статистически значимому улучшению их морфологии. Препараты устранили олиготератозооспермию у 85 (95%ДИ 70,2-94,3)% пациентов (34 человека). Из них от 5-ти мужчин наступила беременность, которая закончилась естественными родами здоровых детей. Эффективность комбинированной терапии гонадотропинами в отношении наступления беременности составила – 12,5 (95%ДИ 4,2-26,8)%. Комбинированная терапия гонадотропинами не сопровождалась нежелательными явлениями.

Результаты обследования пациентов с первичной неэффективностью кломифена цитрата на фоне лечения комбинацией гонадотропинов представлены в таблице 6.

Комбинированная терапия гонадотропинами, назначенная после использования кломифена, привела к статистически значимому увеличению уровня ингибина В, числа сперматозоидов в 1 мл эякулята, а также к улучшению их морфоло-

гии. При этом смена стимулирующей терапии с кломифена на гонадотропины позволила дополнительно устранить олиготератозооспермию у 9 человек. Кроме того, от 1 из мужчин с устраненной олиготератозооспермией на фоне предшествующего лечения кломифеном, наступила беременность, которая окончилась естественными родами здорового ребенка.

Таблица 6. Результаты обследования пациентов с первичной неэффективностью кломифена цитрата на фоне лечения комбинацией гонадотропинов

Параметр	После стимуляции кломифеном (n=37)	После стимуляции гонадотропинами (n=37)	p
Объем яичек, мл	16[9;17]	16[9;17]	1,0
Тестостерон, нмоль/л	24,6[23,9;26,3]	24,7[24,0;27,1]	0,13
Ингибин В, пг/мл	97[47;161]	109[56;175]	**0,018***
Количество сперматозоидов, млн/мл	14[8;15]	16[12;19]	**0,003**
Подвижность А+В, %	17[14;22]	16[14;22]	0,31
Морфологически нормальные формы, %	2[0;3]	4[1;5]	**0,011**

Примечание: Me[Q1;Q3], тест Вилкоксона; *применялась поправка Бонферрони.

Эффективность комбинированной терапии гонадотропинами в отношении устранения олиготератозооспермии являлась статистически значимо более высокой, чем эффективность кломифена (p=0,013), при отсутствии статистически значимых различий в отношении наступления беременностей (p=0,71).Частота изучаемого суррогатного эффекта – устранение олиготератозооспермии в группе кломифена составила 0,575(95%ДИ 0,401-0,730), а истинного эффекта – наступление беременности составила 0,075(95%ДИ 0,160-0,204). В группе гонадотропинов 0,850(95%ДИ 0,702-0,943) и 0,125(95%ДИ 0,420-0,268), соответственно. Относительный риск (кломифен/гонадотропины) для устранения олиготератозооспермии - 0,676 (95%ДИ 0,503-0,910), а для наступления беременности – 0,600 (95%ДИ 0,154-2,344). Снижение относительного риска при использовании кло-

мифена по сравнению с гонадотропинами для устранения олиготератозооспермии составило 0,324, а для наступления беременности 0,400.

При сравнении пациентов с достинутым и недостигнутым эффектом стимулирующей терапии были выявлены статистически значимые различия в объеме яичек, который был меньше в группе пациентов с недостигнутым эффектом отлечения (18[16;20] мл против 9[8;18], p=0,044). Кроме того, у пациентов с недостигнутым эффектом в большинстве случаев отмечалась тотальная тератозооспермия (0% нормальных форм сперматозоидов).

С целью изучения деталей улучшения морфологии сперматозоидов на фоне проведенного лечения были проанализированы результаты ЭМИС, таблица 7.

Таблица 7. Результаты ЭМИС пациентов с положительным эффектом от стимулирующей терапии в динамике

Параметр	Исходно (n=66)	Динамика (n=66)	P
Интактные головки	2[1;2]	5[4;6]	**<0,001***
Неконденсированный хроматин	48[40;63]	31[26;37]	**<0,001***
Деградировавшие сперматозоиды	10[8;12]	9[7;11]	0,054*

Примечание: Me[Q1;Q3], тест Вилкоксона; * применялась поправка Бонферрони

ЭМИС демонстрирует, что улучшение морфологии сперматозоидов на фоне стимулирующей терапиивыражается в увеличении числа интактных головок сперматозоидов в сочетании с улучшением качества (конденсации) хроматина.

Как и следовало ожидать, в группе контроля за время наблюдения никаких изменений отмечено не было, таблица 8.

Таблица 8. Показатели группы контроля в динамике

Параметр	Исходно (n=40)	6 мес (n=40)	p
Объем яичек, мл	18[14;20]	18[14;20]	1,0
ЛГ, ЕД/мл	3,7[2,9;4,4]	3,6[2,7;4,9]	0,87
ФСГ, ЕД/мл	4,8 [4,3;5,5]	4,9 [4,4;5,9]	0,79
Тестостерон, нмоль/л	14,3[13,6;17,1]	15,1[13,3;17,4]	0,96
Ингибин В, пг/мл	63[24;109]	67[24;112]	0,84
Количество сперматозоидов, млн/мл	9[6;11]	9[5;12]	0,84
Подвижность А+В, %	18 [13;26]	17[14;25]	0,78
Морфологически нормальные формы, %	2[0;3]	2[0;3]	1,0

Примечание: Me[Q1;Q3], тест Вилкоксона

Пациентам (n=71) с отсутствием беременности на фоне стимулирующей терапии гонадотропинами (основная группа) было рекомендовано лечение бесплодия путем использования ВРТ. Пациентам контрольной группы (n=40) так же был рекомендован этот метод лечения. На момент проведения ВРТ пациенты, основной и контрольной группы были сопоставимы по возрасту, ИМТ, объему яичек и наличию детей в анамнезе. Показатели сперматогенеза в основной группе являлись статистически значимо лучше таковых в контрольной группе, что было обусловлено предшествующей терапией стимулирующей сперматогенез (количествосперматозоидов после стимуляции в основной группе 20[12;27] млн/мл в контрольной – 9[5;12] млн/мл, p<0,001, морфологически нормальных форм 5[3;7] %, в контрольной – 2[0;3] %, p<0,001). Исходные характеристики сперматогенеза у пациентов основной (до стимуляции) и контрольной групп не различались, таблица 9.

Таблица9. Результаты обследования пациентов на момент включения

Параметр	Основная группа (n=71)	Группа контроля(n=40)	p
Возраст, лет	28[22;32]	26[24;33]	0,64*
ИМТ, кг/м2	24,7 [21,8;28,9]	23,9 [22,4;26,8]	0,78*
Наличие детей в анамнезе, %	35,2 (95%ДИ 24,2-47,5)	40(95%ДИ 24,9-56,7)	0,68**
Объем яичек, мл	18[15;20]	18[14;20]	0,97*
Количество сперматозоидов, млн/мл	10[7;12]	9[6;11]	0,53*
Подвижность А+В, %	18[14;26]	18 [13;26]	0,47*
Морфологически нормальные формы, %	2[0;3]	2[0;3]	0,98*

Примечание: *Me[Q1;Q3], U-критерий Манна-Уитни; ** Me(95%ДИ), точный двухсторонний критерий Фишера

Результаты лечения методом ВРТ представлены в таблице 10.

Таблица 10. Результаты лечения пациентов путемВРТ

Параметр	Основная группа (n=71)	Группа контроля (n=40)	p
Количество яйцеклеток	9[8;11]	9[7;12]	0,99*
Число перенесенных эмбрионов	2[1;2]	2[1;2]	0,81*
Частота оплодотворения, %	69[60;78]	62[48;79]	0,28*
Частота формирования бластоцисты высокого качества,%	20[0;27]	8[0;15]	**0,012*** ***
Частота наступления беременности,%	28,2(95%ДИ 18,1-40,1)	10 (95%ДИ 2,8-23,7)	**0,031****
Показатель родов живыми детьми по отношению к числу наступивших беременностей,%	85,0(95%ДИ 62,1-96,8)	75 (95%ДИ 19,4-99,4)	0,54**

Примечание: *Me[Q1;Q3], U-критерий Манна-Уитни; ** Me(95%ДИ), точный двухсторонний критерий Фишера; *** применялась поправка Бонферрони

Были выявлены статистически значимые различияв формировании бластоцист высокого качества, число которых оказалось выше в группе пациентов, получавших стимулирующую терапию гонадотропинами перед ВРТ. Это повлияло и на частоту наступления беременностей -отмечалась статистически значимое увеличение их числа в основной группе пациентов. Частота наступление беременности в группе контроля составила 0,100(95%ДИ 0,028-0,237), а в группе, получавшей терапию гонадотропинами – 0,282(95%ДИ 0,181-0,401). Относительный риск (контроль/гонадотропины) – 0,355 (95%ДИ 0,130-0,966). Снижение относительного риска наступления беременности при отказе от стимуляции гонадотропинами - 0,645.

Таким образом, проведенноеисследование продемонстрировало, что все исследованные виды стимулирующей терапии приводят к повышению уровня тестостерона, ингибина В, концентрации сперматозоидов и улучшению их морфологии. Однако в отношении устранения олиготератозооспермии и достижения спонтанного зачатия наиболее эффективна комбинированная терапия гонадотропинами (ХГЧ в сочетании с рекомбинантным ФСГ), при этом длительность лечения должна составлять 6 мес. Комбинированная терапия гонадотропинами может быть с успехом использована в случаях предшествующего неэффективного лечения антиэстрогенами. Стимулирующая терапия наряду с увеличением общего числа сперматозоидов приводит к позитивным изменениям их морфологии, которые включают улучшение «конденсации» хроматина и увеличениечисла интактных головок сперматозоидов. Кроме того, использование стимулирующей сперматогенез терапии на этапе подготовки к ВРТ повышает их эффективность. При этом исследованные виды стимулирующей терапии не приводят к развитию НЯ.

Выводы

1. У бесплодных пар, обратившихся в ЭНЦ, частота мужского фактора составляет 77,1 (95%ДИ 75,3-91,1)%, и ведущими в его патогенезе являются эндокринный и инфекционно-воспалительный факторы. У 17,7 (95%ДИ 8,7-19,4)%

бесплодных мужчин выявляется олигоастенотератозооспермия.

2. Терапия олиготератозооспермии гонадотропинами (ХГЧ в сочетании с р-ФСГ) является более эффективной по сравнению с кломифена цитратом.

3. При сравнении показателей до и после лечения бесплодия как кломифена цитратом, так и гонадотропинами наблюдаетсяувеличение общего числа сперматозоидов, улучшение конденсации хроматина и уменьшение их деградировавших форм.

4. У мужчин с олиготератозооспермией использование стимулирующей терапии гонадотропинами на этапе подготовки к ВРТ увеличивает частоту образования бластоцисты высокого качества и наступивших беременностей.

Практические рекомендации

1. Учитывая сочетание двух и более факторов бесплодия в 44 (95%ДИ 41,6-67,0)% случаев, при диагностике его причин требуется комплексное обследование с обязательной оценкой эндокринного аспекта.

2. При мужском бесплодии, обусловленном олиготератозооспермией,для терапии старта возможноиспользование антиэстрогена кломифена цитрата, учитывая достаточно высокую эффективность, дешевизну и простоту применения.Но в случаях выраженной олиготератозооспермии, а так же при предшествующей неэффективности других видов стимуляции сперматогенеза рекомендуется использование комбинированной терапии гонадотропинами (ХГЧ в сочетании с р-ФСГ).Используемая стимулирующая терапия должна включать обязательную оценку морфологии сперматозоидов высокоточными методами.

3. При подготовке к ВРТ мужчин с олиготератозооспермией рекомендуется использовать стимулирующую сперматогенез терапию гонадотропинами длительностью 6 мес.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации:

1. **Парфенова Н. С.,** Роживанов Р. В., Курбатов Д. Г. Гормональная стимуляционная терапия олигоспермии у мужчин с бесплодием // Сборник тезисов. Всероссийский конгресс «Современные технологии в эндокринологии».- Российская Федерация, Москва, 23-26 ноября 2009.- с. 197.

2. Курбатов Д. Г., **Парфенова Н. С.,** Роживанов Р. В. Современные представления о методах гормональной стимулирующей терапии сперматогенеза у мужчин с бесплодием. Обзор литературы // Андрология и генитальная хирургия.-2009.-№2.-с. 11-18.

3. Роживанов Р. В., **Парфенова Н. С.,** Курбатов Д. Г. Лечение олигоспермии у мужчин с бесплодием // Проблемы эндокринологии.-2010.-№1, том 56.-с. 31-34.

4. Роживанов Р. В., Мельниченко Г. А., **Парфенова Н. С.,** Курбатов Д. Г. Использование андрогенной стимулирующей терапии для улучшения фертильности мужчин с опухолями гипофиза // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2010. - №2. – с. 62-64.

5. Роживанов Р. В., **Парфенова Н. С.,** Курбатов Д. Г. Использование андрогенной стимулирующей терапии для улучшения фертильности мужчин с опухолями гипофиза // Материалы VI Российского конгресса «Мужское здоровье» с международным участием – Российская Федерация, Москва, 16-18 июня 2010 – с. 214.

6. **Кравцова Н. С.,** Роживанов Р. В., Курбатов Д. Г. Современные методы гормональной стимулирующей терапии нарушений сперматогенеза у мужчин // Вестник репродуктивного здоровья.-2010.-№3-4.-с.9-13.

7. Роживанов Р. В., **Кравцова Н. С.,** Тишова Ю. А., Курбатов Д. Г. Применение хорионического гонадотропина для стимуляции сперматогенеза у мужчин // Вестник репродуктивного здоровья.-2010.-№3-4.-с.34-35.

8. **Кравцова Н. С.,** Роживанов Р. В., Курбатов Д. Г. Стимуляция сперматогенеза у мужчин гонадотропинами и антиэстрогеном при патоспермии и бесплодии // Материалы VII Всероссийского конгресса эндокринологов "Достижения персонализированной медицины сегодня – результаты практического здравоохранения завтра" - РФ, Москва, 2-5 марта 2016 – с.364.

9. Роживанов Р. В., Курбатов Д. Г., **Кравцова Н. С.** Дифференциально-диагностическое, прогностическое и терапевтическое значение пробы с кломифеном у мужчин с гипогонадизмом // Проблемы эндокринологии. 2016;62(1):35-37. doi: 10.14341/probl201662135-37

10. Роживанов Р.В., **Кравцова Н.С.,** Курбатов Д.Г. Стимуляция сперматогенеза у мужчин при патоспермии и бесплодии // Урология. 2016;1(приложение 1):54–58.

11. **Кравцова Н. С.,** Роживанов Р. В., Курбатов Д. Г. Стимуляция сперматогенеза гонадотропинами и антиэстрогеном при патоспермии и бесплодии мужчин // Проблемы эндокринологии. 2016;62(2):37-41. doi: 10.14341/probl201662237-41

12. **Кравцова Н. С.,** Роживанов Р. В., Курбатов Д. Г. Стимуляция сперматогенеза у мужчин комбинированной терапией фолликулостимулирующим гормоном и хорионическим гонадотропином при патозооспермии и бесплодии в случаях неэффективности монотерапии хорионическим гонадотропином или антиэстрогеном // Андрология и генитальная хирургия. 2016;17(2):29-32. https://doi.org/10.17650/2070-9781-2016-17-2-29-33

13. Роживанов Р. В., Курбатов Д. Г., **Кравцова Н. С.** Дифференциально-диагностическое, прогностическое и терапевтическое значение пробы с кломифеном у мужчин с гипогонадизмом // Материалы III Всеросийский эндокринологический конгресс с международным участием "Инновационные технологии в эндокринологии", - РФ, Москва, 1-4 марта, 2017 с. 464.

14. **Кравцова Н. С.,** Роживанов Р.В., Витязева И.И., Курбатов Д.Г. Стимуляция сперматогенеза у мужчин комбинированной терапией препаратом ФСГ и

хорионическим гонадотропином при патоспермии и бесплодии в случаях предшествующей неэффективности других видов лечения // Материалы III Всеросийский эндокринологический конгресс с международным участием "Инновационные технологии в эндокринологии", - РФ, Москва, 1-4 марта, 2017 с. 509.

15. **Кравцова Н. С.,** Витязева И. И., Роживанов Р. В., Курбатов Д. Г.Распространенность и необходимость коррекции олиготератозооспермии у мужчин с бесплодием // Материалы II Всероссийской конференции с международным участием «Репродуктивное здоровье женщин и мужчин»,- РФ, Москва, 8-9 апреля, 2017 с. 25.

Список сокращений

ЭНЦ – эндокринологический научный центр

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ДИ - доверительный интервал

ИМТ - индекс массы тела

ЛГ - лютеинизирующий гормон

ФСГ - фолликулостимулирующий гормон

ХГЧ - хорионический гонадотропин человека

ЭМИС - электронно-микроскопическое исследование спермы