

Фертильность подростков и молодых мужчин, излеченных от лимфомы ходжкина

ВИНОКУРОВ АЛЕКСЕЙ АЛЕКСЕЕВИЧ¹, ВАРФОЛОМЕЕВА СВЕТЛАНА РАФАЭЛЕВНА¹,
ТАРУСИН ДМИТРИЙ ИГОРЕВИЧ², АБДУЛЛАЕВ РУСЛАН ТАГИРОВИЧ³,
ГРЕТЦОВ ЕВГЕНИЙ МИХАЙЛОВИЧ⁴, ЛУЦЕНКО ИРИНА НИКОЛАЕВНА⁴,
ПИВНИК АЛЕКСАНДР ВАСИЛЬЕВИЧ⁴, МОИСЕЕВА ТАТЬЯНА НИКОЛАЕВНА⁴

Одним из основных побочных эффектов терапии лимфомы Ходжкина (ЛХ) является возникновение бесплодия. Учитывая то, что пик заболеваемости приходится на возраст 25-30 лет, сохранение фертильности имеет особое значение в данной группе пациентов.

Целью исследования стала оценка фертильности подростков и молодых мужчин, излеченных от ЛХ. Для этого были обследованы 63 пациента, получавших терапию в период с 1993 по 2011 гг. Оценивались показатели сперматогенеза, уровни половых гормонов (ЛГ, ФСГ, Тс), а также количество детей, зачатых с использованием вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и без них. Согласно полученным схемам терапии пациенты были разделены на IV группы: I гр. BEACOPP-14 (n=30); II гр. MOPP + ABVD (n=15); III гр. ABVD (n=11); IV гр. BEACOPP – Esc. (n=7).

В результате проведенной работы было установлено, что факторами риска возникновения азооспермии явились инициальные нарушения сперматогенеза, выявленные у 48% (10/21) пациентов. Азооспермия после лечения наблюдалась у 42% (25/63) пациентов, норма - у 12% (19/63). У пациентов с азооспермией отмечалось повышение уровней ФСГ (p=0,00) и ЛГ (p=0,02). Статистически значимых различий концентрации тестостерона у пациентов в зависимости от азооспермии (p=0,4) выявлено не было. После лечения родилось 17 детей, 14 из которых зачаты естественным путем и 3 - с помощью ВРТ (ЭКО). В группе ABVD минимальный интервал от окончания лечения до зачатия составил 1 мес.; в группе BEACOPP-14 - 8 мес. Терапия по протоколу BEACOPP-14 оказывает значительное негативное влияние на мужскую фертильность. Всем пациентам с диагнозом лимфома Ходжкина, до начала противоопухолевой терапии должно быть рекомендовано проведение криоконсервации спермы.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, BEACOPP-14, гонадотоксичность, бесплодие.

Malign Tumours 2012;2:18-28. © 2012 RUSSCO

ВВЕДЕНИЕ

В результате эффективности терапии лимфомы Ходжкина количество излеченных пациентов значительно возросло. Современные методы терапии позволяют достичь полной ремиссии на ранних стадиях заболевания более чем в 80% случаев. Однако проблемы возникновения отдаленных последствий лечения по-прежнему играют основную роль среди факторов, негативно влияющих на качество жизни. У мужчин к наи-

более часто возникающим отдаленным последствиям терапии ЛХ относят гонадотоксичность, а также изменение уровней половых гормонов [1]. Алкилирующие препараты (АП) принято считать основной причиной развития гонадотоксичности. Длительность проявлений гонадной дисфункции может варьировать от нескольких лет до десятилетий и часто коррелирует с кумулятивной дозой АП, полученной пациентом [2]. Механизм действия АП основан на возможности встраивания в структуру молекулы ДНК и ин-

Место работы авторов: ¹Федеральный научно - клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии, Москва, Россия; ²Научно-практический центр детской андрологии департамента здравоохранения, Москва, Россия; ³Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова РАМН, Москва, Россия; ⁴Гематологический научный центр РАМН, Москва, Россия.

Контактная информация: Винокуров Алексей Алексеевич, Федеральный научно - клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии, ул. Саморы Машела, дом 1, Москва 117198, Россия, Email: maleoncofertility@gmail.com; тел. +7(495) 287-6570

Статья получена 01 мая 2012; утверждена в печать 06 августа 2012

дукции множественных разрывов, приводящих к прекращению синтеза и репликации наследственного материала в делящихся клетках [3,4]. Неклассические алкилирующие препараты превращаются из неактивного соединения в активное непосредственно внутри клетки. Например, прокарбазин или дакарбазин трансформируются в печени, и их последующее воздействие на клетки реализуется образованием множественных одонитевых разрывов, фрагментацией ДНК, генотоксическим эффектом, накоплением нерепарируемых повреждений, что, в конечном счете, приводит к индукции апоптоза [5,6]. Клинически гибель клеток герминативного эпителия или значительные нарушения их активности проявляются не только диспермией или азооспермией, но и изменением интенсивности секреции половых гормонов [7]. Наиболее характерным признаком дисфункции гонад является увеличение секреции ФСГ, уменьшение секреции ингибина В и снижение уровня тестостерона. Считается, что гипотестостеронемия снижает качество жизни и здоровья пациентов старшего возраста и является причиной задержки наступления периода полового созревания у подростков [8].

В стремлении снизить токсичность схем химиотерапии и увеличить выживаемость пациентов создаются новые или оптимизируются существующие терапевтические схемы. Примером может являться схема BEACOPP-14, начавшаяся использоваться сравнительно недавно и ввиду своей эффективности получившая широкое распространение. До сих пор влияние указанной схемы на репродуктивную систему не изучалось.

Целью нашего исследования стала оценка гонадотоксичности различных схем лечения лимфомы Ходжкина (BEACOPP-14, MOPP+ABVD, ABVD и BEACOPP-Эскалированный) у подростков и молодых мужчин, оценка эндокринных проявлений гонадной дисфункции, а также определение количества детей, рожденных от излеченных пациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мы обследовали 63 пациента, излеченных от лимфомы Ходжкина по различным протоколам химиотерапии. Все мужчины проходили лечение в ГНЦ РАМН на базе отделения химиотерапии гематологических заболеваний и интенсивной терапии в период с 1996 по 2011 гг. Обследование проводилось с 2008 по 2011 гг.; медиана наблюдения за группой составила 26 мес., (1 - 180 мес.); медиана возраста пациентов к началу лечения - 22 года (14 - 35 лет); медиана возраста

при обследовании - 27 лет (19 - 37 лет). Схемы лечения обследованных пациентов и дополнительные характеристики пациентов приведены в таблицах 1 и 2.

Согласно полученным схемам терапии обследованные пациенты разделялись на IV группы:

I - (BEACOPP-14). Медиана возраста пациентов к началу лечения 23 года (18-35 лет); медиана наблюдения - 10 мес. (1- 40 мес.); медиана возраста при обследовании - 25 лет (19-35 лет).

II - (MOPP + ABVD). Медиана возраста пациентов к началу лечения - 19 лет (16-24 года); медиана наблюдения - 124 мес. (95-180 мес.); медиана возраста пациентов при обследовании - 31 год (27-36 лет).

III - (ABVD). Медиана возраста пациентов к началу лечения - 20 лет (14-29 лет); медиана наблюдения за группой - 72 мес. (1 - 104 мес.); медиана возраста при обследовании - 27 лет (21-33 года).

IV - (BEACOPP-Эскалированный (BEACOPP - Esc)). Медиана возраста к началу лечения - 25 лет (17 - 28 лет); медиана продолжительности наблюдения - 27 мес. (5 - 135 мес.); медиана возраста при обследовании - 31 год (19 - 37 лет).

В зависимости от наличия или отсутствия признаков сперматогенеза пациенты каждой группы были распределены на А и В подгруппы: подгруппа А - пациенты с признаками сперматогенеза (диспермии, нормальными показателями); подгруппа В - пациенты с отсутствием сперматогенеза (азооспермией).

Критерии включения в исследование:

- ремиссия лимфомы Ходжкина, достигнутая после первой линии терапии;
- ремиссия к моменту обследования;
- отсутствие коррекции интенсивности химиотерапии или лучевой терапии в интервале от 20 до 40 дней между схемами;
- отсутствие ВИЧ, сифилиса, вирусного гепатита В или С.

Подавляющему большинству пациентов до начала лечения была проведена криоконсервация спермы в жидком азоте. Если же криоконсервация до лечения не проводилась, учитывались результаты обследований пациентов с доказанной фертильностью (беременности или рожденного ребенка). Рождение детей, подтверждает факт наличия сперматогенеза у некоторых отказавшихся от обследования пациентов. Это позволяет нам использовать данные указанных пациентов и включить их в когорту восстановивших сперматогенез пациентов.

Таблица 1. Схемы первой линии полихимиотерапии лимфомы Ходжкина [9].

Название	Препараты (*алкилирующие препараты)	Доза мг/м ²	День введения
ABVD	Доксорубицин	25 внутривенно	1-й и 14-й
	Блеомицин	10 внутривенно	1-й и 14-й
	Винбластин	6 внутривенно	1-й и 14-й
	Дакарбазин*	375 внутривенно	1-й и 14-й. Цикл возобновляют на 28 день.
MOPP/ABVD	Мустарген*	6 внутривенно	1-й и 8-й
	Онковин (винкристин)	1,4 внутривенно (не более 2 мг)	1-й и 8-й
	Прокарбазин*	100 внутрь	1-14-й ежедневно
	Доксорубицин	25 внутривенно	1-й и 15-й
	Блеомицин	10 внутривенно	1-й и 15-й
	Винбластин	6 внутривенно	1-й и 15-й
	Дакарбазин*	375 внутривенно	1-й и 15-й.
	Преднизолон	40 внутрь	1-14-й ежедневно. Цикл возобновляют на 28-й день
BEACOPP – 14/ (эскалированный)	Циклофосфан*	650/(1250)	1-й
	Доксорубицин	25/(35) внутривенно	1-й
	Этопозид	100/(200) внутрь	1-3-й
	Прокарбазин*	100 внутрь	1-7-й
	Преднизолон	40 внутрь	1-8-й
	Онковин(винкристин)	1,4 внутривенно (не более 2 мг)	8-й
	Блеомицин	10 внутривенно	8-й. Цикл возобновляют на 15 день /(на 21 день)

Анамнез формировался согласно документации лечебного учреждения, проводившего терапию. В анкетных данных фиксировались: осведомленность пациентов о необходимости криоконсервации спермы, результаты исследований показателей сперматогенеза до и/или после лечения, информация о возникавших от излеченных пациентов беременностях и их исходах.

Лабораторно оценивались уровни половых гормонов в крови (фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), общего тестостерона (Т)), а так же показателей сперматогенеза (спермограммы).

Исследование эякулята

Показатели сперматогенеза до начала лечения оценивались с использованием светоптического микроскопа, а также электронного аналитического оборудования Hamilton Thorn (НТМ-IVOS V12.1). Для сравнения concentra-

ции сперматозоидов, полученной с помощью гемоцитометра и электронного анализатора, применялся уравнивающий коэффициент [9]. Лабораторный анализ эякулята после лечения проводился с использованием светового микроскопа Zeiss Axiostar Plus. Оценка и трактовка полученных результатов осуществлялись согласно рекомендациям ВОЗ, 4-е издание (табл. 3).

Эякулят центрифугировался при отсутствии сперматозоидов, полученный в результате осадок микроскопировался. Выявление единичных живых или мертвых сперматозоидов расценивалось как восстановление сперматогенеза.

При ретроспективном анализе спермограмм, полученных в различных лабораториях, учитывались показатели эякулята, отраженные в спермограммах всех пациентов (объем спермы, концентрация и суммарная линейная подвижность сперматозоидов категорий А и В).

Таблица 2. Дополнительные характеристики обследованных пациентов

Характеристики пациентов	n общ (%)	n BEACOPP 14 (%)	nMOPP + ABVD (%)	nABVD (%)	nBeacoppEsc (%)
n- пациентов	63	30 (47)	15 (24)	11 (18)	7 (11)
n- блоков химиотерапии	-	4 – 8	5 – 8	4 – 8	6 – 8
Лучевая терапия	56 (89)	23	15	11	7
Облучение остаточного очага в пахово-подвздошной области	6 (9)	2 (7)	3 (20)	0	1 (14)
Нодулярный склероз	52 (83)	27 (90)	14 (93)	8 (73)	5 (71)
Смешанноклеточный вариант	6 (9)	2 (7)	1(7)	2 (18)	2 (29)
Лимфоидное истощение	5 (8)	1 (3)	-	1 (9)	-
Наличие В - симптомов	21 (33)	21 (70)	11 (73)	4 (36)	5 (71)
Стадия заболевания					
I A-B	1 (2)	-	-	1 (9)	-
II A-B	22 (35)	6 (20)	6 (40)	7 (64)	2 (29)
III A-B	22 (35)	13 (43)	6 (40)	2 (18)	2 (29)
IV A-B	18 (28)	11 (37)	3 (20)	1 (9)	3 (42)

Исследование половых гормонов

Сбор образцов крови проводился в соответствии с общими правилами подготовки к лабораторным исследованиям. Количественная оценка уровней гормонов осуществлялась методом иммуноферментного анализа на базе лаборатории биохимической эндокринологии и гормонального анализа ЭНЦ РАМН. Результаты трактовались в соответствии с референсными значениями, указанными лабораторией: ЛГ (2,2-11,1 Ед/л), ФСГ (1,6-9,7 Ед/л) и Тс (11,0-33,5 нмоль/л).

Методы статистического анализа наблюдений

Процедуры статистического анализа выполнялись с помощью программы STATISTICA 8.0. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось $\leq 0,05$ (двусторонний тест, применимый к параметрическому распределению). В случае превышения достигнутого уровня значимости принималась нулевая гипотеза.

Проверка нормальности распределения вероятности количественных признаков с помощью критерия Колмогорова и критерия Шапиро-Уилка показала, что более 80% всех количественных признаков в группах сравнения не имели нормального распределения. Поэтому для сравнения центральных параметров групп использовались непараметрические методы:

дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса с ранговыми метками Вилкоксона и критерий Ван дер Вардена [10-14]; учитывая малую выборку пациентов, получавших протоколы BEACOPP-Esc и ABVD, для анализа результатов использовалась дискриптивная статистика. Для всех количественных признаков в сравниваемых группах производилась оценка средних показателей, медианы, размаха. Для сравнения количественных признаков использовался критерий Манна-Уитни. Исследование взаимосвязи между парами дискретных качественных признаков проводилось с использованием анализа парных таблиц сопряженности, с помощью критерия Пирсона Хи-квадрат. Для анализа взаимосвязи между количественными признаками использовался корреляционный анализ с оценкой ранговых коэффициентов корреляции Спирмена [10,12].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Показатели сперматогенеза до лечения были оценены у 21 пациента (33%), у 10 из которых до начала противоопухолевой терапии были выявлены различные нарушения. У 9 из 10 пациентов с инициальной патоспермией после окончания лечения развилась азооспермия. У 11 пациентов с исходно нормальными показателями сперматогенеза после окончания лечения азооспермия не наблюдалась.

Таблица 3. Классификация диспермий согласно рекомендациям ВОЗ 1999г.

Олигоспермия (О)	Объем полученного образца менее 2,0 мл
Олигозооспермия (Оз)	Концентрация сперматозоидов в 1 мл полученного образца менее 20 млн.
Астенозооспермия (А)	Суммарная линейная подвижность сперматозоидов категорий А и В менее 50% или суммарная линейная подвижность сперматозоидов категории А менее 25%
Тератозооспермия (Т)	Менее 50% сперматозоидов с нормальной морфологией
Некрозооспермия (Н)	Количество живых сперматозоидов менее 75%
ОАТ- синдром	Сочетание олигозооспермии, астенозооспермии и тератозооспермии
Азооспермия (Азоо)	Отсутствие сперматозоидов в эякуляте
Аспермия	Отсутствие эякулята

Учитывая признаки диспермий у большинства пациентов до начала лечения, проверке подверглась гипотеза влияния исходных изменений в спермограмме на риск развития азооспермии. Мы выяснили, что различия между группами оказались статистически значимыми (критерий хи-квадрат с поправкой Йейтца = 13,85; $p = 0,0002$).

После лечения лабораторное исследование эякулята проводилось 87% ($n = 55/63$) пациентов. У 58% ($n = 32/55$) пациентов определялся сперматогенез, у 42% ($n = 23/55$) - выявлена азооспермия.

Все пациенты, получившие циклофосфан (Цф), вне зависимости от протокола лечения, разделялись на 2 группы. Было проведено сравнение кумулятивных доз циклофосфана, не показавшее статистически значимых различий ($p = 0,66$). В группе пациентов с азооспермией ($n = 17$) медиана суммарной дозы циклофосфана составила 3900 мг/кв.м (3250-10000), в группе пациентов без азооспермии ($n = 19$) – 3900 мг/кв.м (2650-10000). Аналогично, пациенты, получившие терапию ВЕАСОРР-14, были разделены на 2 группы. При сравнении суммарных доз циклофосфана в обеих группах, статистически значимых различий получено не было ($p = 0,94$).

Медиана суммарной дозы циклофосфана в группе пациентов с азооспермией ($n = 13$) составила 3900 мг/кв.м (3250-10000), в группе пациентов без азооспермии ($n = 16$) – 3900 мг/кв.м (2600-10000).

Анализ корреляций суммарных доз циклофосфана с показателями спермограммы показал отрицательные корреляции объема спермы (Spearman $R = -0,1$, $p = 0,56$), концентрации сперматозоидов (Spearman $R = -0,04$, $p = 0,81$), подвижности сперматозоидов А+В (Spearman $R = -0,1$, $p = 0,59$), подвижности сперматозоидов А

(Spearman $R = -0,15$, $p = 0,84$), количества живых сперматозоидов (Spearman $R = -0,09$, $p = 0,62$) и положительные корреляции, связанные с концентрацией мертвых сперматозоидов (Spearman $R = 0,01$, $p = 0,95$). Статистической значимости во всех случаях корреляционного анализа получено не было.

При анализе корреляций суммарных доз циклофосфана в схеме ВЕАСОРР-14 и показателей спермограммы были получены отрицательные корреляции концентрации сперматозоидов (Spearman $R = -0,13$, $p = 0,51$), подвижности А+В (Spearman $R = -0,11$, $p = 0,58$), подвижности сперматозоидов А (Spearman $R = -0,22$, $p = 0,26$), количества живых сперматозоидов (Spearman $R = -0,08$, $p = 0,7$) и положительные корреляции объема спермы (Spearman $R = 0,06$, $p = 0,78$) и концентрации мертвых сперматозоидов (Spearman $R = 0,09$, $p = 0,7$). Статистической значимости во всех случаях корреляционного анализа получено не было.

Далее будут рассмотрены результаты обследований каждой группы в отдельности.

ГРУППА I (ВЕАСОРР - 14).

Результаты исследования сперматогенеза

Показатели сперматогенеза после лечения были оценены у 93% (28/30) пациентов. Двое отказались от обследования по причине рождения здоровых детей. Частота азооспермии обследованных пациентов составила 43% (13/30). До начала лечения были обследованы 12 пациентов, у 6 из которых определялась инициальная диспермия (снижение объема, подвижности и/или концентрации). После окончания лечения у 5 из 6 пациентов с ранее диагностированными нарушениями возникла азооспермия.

После лечения выявлены статистически значимые изменения концентрации и подвижности сперматозоидов, тогда как объем эякулята существенно не изменился (табл. 4).

Все обследованные пациенты получили от 4 до 8 курсов химиотерапии (табл. 2). Статистически значимых различий отсутствия или наличия сперматогенеза в зависимости от количества курсов химиотерапии и возраста найдено не было ($p=0,65$ и $p=0,65$).

Для пациентов подгрупп *A* и *B* медиана возраста оказалась равной, составив 23 года. В подгруппе *A* показатели сперматогенеза исследовались у 88% (15/19 чел.) (табл. 5).

Восстановление сперматогенеза менее чем через 30 дней после окончания лечения наблюдалось у 27% (4/15 чел.). В подгруппе *B* были обследованы все пациенты ($n=13$ чел.). Медиана азооспермии составила 22 мес. (1-29 мес.). Спонтанное восстановление сперматогенеза через 14 мес. после окончания лечения наблюдалось у 1 чел. Показатели сперматогенеза указанного пациента характеризовались множественными нарушениями.

Результаты исследования половых гормонов

Оценка уровней ЛГ, ФСГ, Тс была проведена у 97% (29/30) пациентов. Изолированные изменения выявлены у 55% (16/29) пациентов, сочетанные - у 24% (7/29), нормальные значения - у 21% (6/29). Снижение уровня тестостерона выявлено у 38% (11/29) пациентов: изолированное снижение - у 45% (5/11), сочетанное - у 55% (6/11). В подгруппе *A* уровни половых гормонов были оценены у 94% (16/17), в подгруппе *B* - у 100% ($n=13$) (табл. 6).

Изолированные изменения уровней половых гормонов выявлены у 44% (7/16) пациентов: увеличение ФСГ - 3 чел., снижение Тс - 3 чел., снижение ЛГ - 1 чел.; сочетанные отклонения - у 19% (3/16) пациентов: снижение Тс/ЛГ - 1 чел., снижение Тс/ФСГ - 1 чел., снижение Тс/увеличение ФСГ и ЛГ - 1 чел.

В подгруппе *B* изолированные отклонения от референсных значений выявлены у 39% (9/13) пациентов: повышение ФСГ - 7 чел., повышение ЛГ - 1 чел., снижение Тс - 1 чел.; сочетанные отклонения выявлены у 61% (4/13) пациентов: снижение Тс/увеличение ФСГ - 3 чел., снижение Тс/ЛГ - 1 чел.

В сравниваемых подгруппах *A* и *B* выявлены статистически значимые различия уровней ЛГ ($p=0,017$) и ФСГ ($p=0,0001$). При сравнении уровня тестостерона в тех же подгруппах статистически значимых различий найдено не было, $p=0,4$.

Беременности и рождение детей

Три беременности, возникшие через 8, 14 и 18 мес. после окончания лечения от трех излеченных пациентов, завершились рождением детей. Все дети были зачаты естественным путем. Еще одна беременность, возникшая в период проведения первых двух блоков химиотерапии, протекала без осложнений и патологии, но была прервана на сроке 12 недель.

ГРУППА II (MOPP+ABVD)

Результаты исследования сперматогенеза

В группе II после лечения были обследованы 93% (14/15) пациентов. Один пациент отказался от обследования по причине рождения двух здоровых детей. Частота азооспермии в группе составила 40% (6/15). В связи с малым количеством имевшихся результатов спермограмм, проведенных до лечения ($n=2$), сравнительный анализ объема эякулята, концентрации и подвижности сперматозоидов не проводился. Однако после лечения у одного из двух указанных пациентов, имевшего инициальную диспермию наблюдалось возникновение азооспермии.

В подгруппе *A* ($n=9$), показатели сперматогенеза были обследованы у 89% (8/9) пациентов. Изолированные нарушения выявлены у 33% (3/9) пациентов, сочетанные - у 67% (5/9) паци-

Таблица 4. Сравнительные параметры сперматогенеза пациентов, обследованных до и после окончания лечения

	n	до лечения	после лечения	Значение – p
объем эякулята, мл (min-max)	12	2,4 (1,0 - 5,0)	2,9 (1,5 - 3,5)	0,77
концентрация сперматозоидов, млн/мл (min-max)	12	42,0 (8,1 - 100)	2,1 (0 - 150)	0,04
концентрация подвижных сперматозоидов категорий А+ В, млн/мл (min-max)	12	42,0 (1,1 - 70,3)	0,48 (0 - 60)	0,04
подвижность сперматозоидов категории А, млн/мл (min-max)	10	19,0 (3 - 87)	2,5 (0 - 2,8)	0,03

Таблица 5. Показатели сперматогенеза

Тип нарушений сперматогенеза	Beacopp-14	Beacopp-Esc	MOPP+ABVD	ABVD
Норма	3	1	0	4
Астенозооспермия	1	-	2	-
Некрозооспермия	2	-	1	2
Некро- астенозооспермия	-	1	3	1
Некро-астено - тератозооспермия	1	-	-	-
Олигоспермия, некро-астенозооспермия	3	1	-	-
Олигоспермия, олигозоо-астено - тератозооспермия	1	-	1	-
Олигозооспермия, астенозооспермия	-	-	1	-
Олигозооспермия, некро-астенозооспермия	2	-	-	-
Олигозооспермия, астено-тератозооспермия	2	-	-	-
Азооспермия	13	4	6	-

ентов. Медиана восстановления сперматогенеза составила 110 мес. (1 - 156 мес.).

В подгруппе В (n = 6) медиана продолжительности азооспермии составила 126 мес. (102 - 180 мес.).

При сравнении частоты развития азооспермии в группах пациентов, получавших лечение схемами BEACOPP-14 и MOPP+ABVD, статистически значимых различий найдено не было (хи-квадрат = 0, p = 0,99).

Результаты исследования половых гормонов

Оценка уровней ЛГ, ФСГ, Тс проведена 73% (11/15) пациентов. Изолированные изменения выявлены - у 36% (4/11): снижение ЛГ – у 1 чел., увеличение ФСГ – у 3 чел.; сочетанные изменения - у 36% (4/11): снижение Тс / снижение ЛГ – у 2 чел., снижение Тс / увеличение ФСГ – у 2 чел., нормальные показатели - у 28% (3/11) пациентов.

В подгруппе А уровни половых гормонов оценены у 78% (7/9) пациентов. Изолированные отклонения выявлены у 3 чел.: увеличение ФСГ – у 2 чел., снижение ЛГ – у 1 чел.; сочетанные отклонения от референсных значений – у 2 чел: снижение Тс / снижение ЛГ – у 2 чел.; нормальные показатели – у 2 чел.

В подгруппе В – уровни половых гормонов были оценены у 67% (4/6) пациентов: повышение уровня ФСГ – у 1 чел.; снижение Тс / увеличение ФСГ – у 2 чел.; нормальные показатели – у 1 чел. Средние значения показателей половых гормонов групп I и II указаны в таблице 6.

В подгруппах А и В выявлены статистически значимые различия уровней ЛГ (p=0,006) и ФСГ (p=0,04). При сравнении уровня тестостерона в тех же подгруппах статистически значимых различий найдено не было p = 0,41.

Беременности и рождение детей

После окончания лечения рождено 7 здоровых детей от четырех излеченных пациентов. На фоне диагностированной азооспермии один из пациентов воспользовался собственной спермой из криобанка, в результате чего на свет появились трое детей; 4 ребенка были зачаты естественным путем.

ГРУППА III (ABVD)

Результаты исследования сперматогенеза

В группе III были обследованы 64% (7/11) пациентов; 4 отказались от лабораторного обследования эякулята по причине рождения здоровых детей. До проведения химиотерапии спермограмма оценивалась у 4 пациентов. Во всех случаях каких либо отклонений от референсных значений выявлено не было. После окончания лечения сперматогенез наблюдался у всех обследованных пациентов. Примечательно, что в большинстве случаев сперматогенез определялся в интервале от 1 до 6 мес. Медиана восстановления сперматогенеза составила 2 мес. (1 - 83 мес.). Изолированные нарушения сперматогенеза определялись у 2 чел., сочетанные - у 1 чел., нормальные показатели - у 4 чел. (табл.5).

Результаты исследования половых гормонов

Оценка уровней ЛГ, ФСГ, Тс проведена 36% (4/11) пациентов. У всех обследованных наблюдались изолированные отклонения от референсных значений: снижение тестостерона – у 2 чел., снижение ЛГ – у 2 чел.

Беременности и рождение детей

После лечения от 4 мужчин родились 5 здоровых детей, зачатых естественным путем. В двух случаях беременность возникла через 1 мес. после окончания химиотерапии.

ГРУППА IV (BEACOPP-ESC)**Результаты исследования сперматогенеза**

В группе IV после лечения показатели сперматогенеза были оценены у всех пациентов (n=7). Частота азооспермии в группе составила 57% (4/7). До начала лечения оценка сперматогенеза проведена двум пациентам. В обоих случаях наблюдались инициальные диспермии. Оценка эякулята пациентов после окончания лечения показала отсутствие признаков сперматогенеза.

В подгруппе А (n = 3) медиана восстановления сперматогенеза составила 10 мес. (8 - 24 мес.). Диспермии наблюдались у 2 чел., нормальные показатели - у 1 чел. (табл. 5). В подгруппе В (n =

4) медиана продолжительности азооспермии составила 20 мес. (5 – 135 мес).

Результаты исследования половых гормонов

Оценка уровней ЛГ, ФСГ, Тс проведена 5 пациентам. Изолированные отклонения от референсных значений определялись у 3 чел. (снижение уровня тестостерона – у 2 чел., повышение ФСГ – у 1 чел.), нормальные показатели – у 2 чел.

Беременности и рождение детей

Один здоровый ребенок, зачатый естественным путем, был рожден через 17 мес. после окончания лечения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Стандартом исследования мужской фертильности является количественная оценка параметров сперматогенеза с использованием световой микроскопии [14]. В ряде исследований у паци-

Таблица 6. Показатели уровней половых гормонов обследованных пациентов подгрупп I и II

BEACOPP-14	Обследованная группа n=29 чел.			группа А n=15 чел.			группа В n=13 чел.		
Параметр оценки и ед. измерения	Тс (нмоль/л)	ЛГ (Ед/л)	ФСГ (Ед/л)	Тс (нмоль/л)	ЛГ (Ед/л)	ФСГ (Ед/л)	Тс (нмоль/л)	ЛГ (Ед/л)	ФСГ (Ед/л)
Нормативные значения	11,0-33,5	2,2-11,1	1,6-9,7	11,0-33,5	2,2-11,1	1,6-9,7	11,0-33,5	2,2-11,1	1,6-9,7
Среднее значение параметра	13,5	5,8	10,7	14	5,2	7,0	12,9	6,7	15,6
Медиана значения параметра	14,2	4,6	9,2	14,3	2,7	4,6	13,2	5,5	17,2
Разброс значений параметра	3,8 - 25,5	1,4 - 15,5	1,3-2,4	3,8-25,5	1,6-7,2	1,3-18,4	5,2-20,8	1,4-15,5	5,7-24,0
MOPP+ABVD	Обследованная группа n = 11 чел.			группа А n = 7 чел.			группа В n = 4 чел.		
Нормативные значения	11,0-33,5	2,2-11,1	1,6-9,7	11,0-33,5	2,2-11,1	1,6-9,7	11,0-33,5	2,2-11,1	1,6-9,7
Среднее значение параметра	15,7	4,0	11,0	17,1	3,0	7,8	13,2	6,0	16,5
Медиана значения параметра	17,0	4,5	8,3	17,0	3,7	6,8	15,0	5,25	15,9
Разброс значений параметра	6,1 – 26,3	1,4 – 7,9	3,1 – 22,5	6,1 – 26,3	1,4 – 4,6	3,1 – 16,2	9,1 – 21,5	5,2 – 7,9	8,3 – 22,5

ентов с лимфомой Ходжкина до начала химиотерапии отмечен рост инициальных диспермий. По разным оценкам их частота варьируется от 59% до 70% [15-17]. Наблюдаемая картина является характерной не только для ЛХ, но и для других злокачественных новообразований. К одной из вероятных причин нарушения сперматогенеза относится прямое или опосредованное влияние цитокинов, продуцируемых опухолью [18-23]. Полученные нами результаты свидетельствуют о наличии инициальных нарушений, но у меньшего числа больных (48%). Интересно, что инициальные нарушения сперматогенеза у 90% пациентов ассоциированы с возникновением азооспермии, что не противоречит данным Bahadur и коллег, полученным в аналогичных исследованиях [24]. Таким образом, изменения в спермограмме до начала химиотерапии являются фактором риска развития азооспермии.

Несмотря на гонадотоксичность проводимой терапии сохранение сперматогенеза наблюдалось у более чем половины (58% (n = 32/55)) обследованных пациентов (8 пациентов, как указывалось ранее, отказались от обследования). Тем не менее, в большинстве случаев сперматогенез подвергался токсическому воздействию, что проявлялось в изменении показателей спермограмм. Лечение пациентов схемами, включавшими два или более алкилирующих препарата, в 78% (n=25/32) случаев сопровождалось тяжелыми диспермиями, среди которых в 53% (n=17/32) случаев наблюдались сочетанные нарушения роста и созревания сперматозоидов.

Схема BEACOPP относится к высокотоксичным схемам лечения и используется у пациентов, находящихся в высокой группе риска развития рецидива лимфомы Ходжкина. Гонадотоксичность схем BEACOPP-Base и BEACOPP-Esc описана в ряде работ, после которых, по данным авторов, частота азооспермий достигала 87-93% [25]. Аналогичных работ, оценивавших гонадотоксичность BEACOPP-14, в литературных источниках найти не удалось. Поэтому сравнение гонадотоксичности схемы BEACOPP-14 мы проводили с BEACOPP-Base. Полученные нами результаты указывают на сравнительно более низкую частоту азооспермий (43%) при сравнимой частоте диспермий у излеченных пациентов, а в указанных схемах - 97% для BEACOPP-Base и 80% для BEACOPP-14.

Дополнительным подтверждением функциональных нарушений гонад после лечения явилось статистически значимое снижение концентрации и подвижности сперматозоидов при сохранении показателей объема эякулята.

Обращает на себя внимание сохранение сперматогенеза у трех пациентов, получавших протокол BEACOPP-14 в пределах 30 дней после окончания терапии. Учитывая данный факт, мы можем предполагать возможность сохранения сперматогенеза у некоторых пациентов на протяжении всего периода противоопухолевого лечения.

Вследствие значительной токсичности комбинированная высокодозная схема MOPP + ABVD в настоящее время практически не используется [26]. Сочетание мустаргена, прокарбазина и дакарбазина в данном протоколе оказывает сильнейшее влияние на сперматогенный эпителий, что по разным данным способно индуцировать азооспермию, сохраняющуюся 12 и более лет [27]. Медиана продолжительности азооспермии у обследованных нами пациентов, получавших указанный протокол лечения, составила 10 лет. Тогда как максимальная продолжительность азооспермии достигала 15 лет. Основываясь на имеющихся литературных данных, а так же специфической картине гормональных изменений, вероятность спонтанного восстановления сперматогенеза в данной когорте пациентов крайне мала.

Частота возникшей азооспермии у пациентов, получавших BEACOPP-14 и MOPP+ABVD, составила 43% и 40% соответственно. Статистически значимых различий выявлено не было, что указывает на сравнимую гонадотоксичность описываемых схем химиотерапии.

Дополнительным признаком нарушений сперматогенеза является изменение гормональной регуляции, вызванной гибелью или значительным повреждением клеток Сертоли и Лейдига. Принято считать, что клетки Лейдига обладают большей устойчивостью к цитотоксической терапии, чем клетки Сертоли [28], тем не менее, снижение уровня общего тестостерона определялось у 39% (19/49) излеченных мужчин. Отклонения от нормативных показателей уровней половых гормонов определялись в 78% (38/49) случаев. Увеличение уровня ФСГ являлось наиболее характерным признаком, указывавшим на дисфункцию сперматогенного эпителия, и наблюдалось в 41% (20/49) случаев.

Сохранение нормального сперматогенеза, либо наличие минимальных его нарушений оставляют высокой вероятность наступления беременности естественным путем. Нами получена информация о 17 детях, рожденных после окончания лечения, 14 из которых зачаты естественным путем и 3 - с помощью ЭКО. Наименьшие интервалы от окончания лечения до возник-

новения беременности составили 1 мес. (ABVD) и 8 мес. (BEACOPP-14). В подгруппе BEACOPP-14 одна беременность возникла в период проведения пациенту первых двух блоков химиотерапии.

В дальнейшем мы планируем продолжить изучение данной проблемы на сравнительно больших выборках пациентов.

ВЫВОДЫ

1. Фактором риска развития азооспермии после окончания лечения ЛХ являются инициальные нарушения сперматогенеза.

2. Азооспермия в результате противоопухолевого лечения наблюдалась у 42% обследованных пациентов (BEACOPP-14 – 43%, MOEP-ABVD – 40%, ABVD – 0%, BEACOPP - Esc – 57%).

3. Наличие сперматогенеза после окончания лечения в 78% случаев сопровождалось диспермиями.

4. Вторичная гипотестостеронемия выявлена у 39% излеченных мужчин, что указывает на значительное влияние терапии на клетки Лейдига.

5. С целью сохранения фертильности всем пациентам репродуктивного возраста с ЛХ рекомендуется проведение процедуры криоконсервации спермы до начала лечения.

Благодарности. Мы благодарим д.м.н. проф. А.В. Пивника и к.м.н. Т.Н. Моисееву за фундаментальный вклад в возможность проведения исследования. Мы выражаем особую признательность д.м.н. проф. Е.А. Деминой и д.м.н. проф. А.А. Пароконной за существенное содействие нашей работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Armitage J.O. Long-term toxicity of the treatment of Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 1998;9(Suppl 5):133–6.
2. Puscheck E., Philip P.A., Jeyendran R.S. Male fertility preservation and cancer treatment. *Cancer Treat Rev* 2004 Apr;30(2):173–80
3. Vogel E.W., Nivard M.J. International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens. The subtlety of alkylating agents in reactions with biological macromolecules. *Mutat Res* 1994 Feb 1;305(1):13–32.
4. Vogel E.W., Barbin A., Nivard M.J., Bartsch H. Nucleophilic selectivity of alkylating agents and their hypermutability in *Drosophila* as predictors of carcinogenic potency in rodents. *Carcinogenesis* 1990 Dec;11(12):2211–7.
5. Ehrenberg L. Covalent binding of genotoxic agents to proteins and nucleic acids. *IARC Sci Pub* 1984;(59):107–14.
6. Angerer J., Ewers U., Wilhelm M. Human biomonitoring: state of the art. *Int J Hyg Environ Health* 2007 May;210(3–4):201–28.

7. Krawczuk-Rybak M., Solarz E., Wojtkowska M., Wysocka J., Matysiak M., Gadomski A., Kazanowska B., Sega-Pondel D., Gonadal function in young men after the treatment for Hodgkin lymphoma. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab.* 2009;15(2):85–92.

8. Swerdlov A.J., Barber J.A., Hudson G.V. et al. *J Clin Oncol* 2000;18(3):498–508.

9. Волкова М.А., Клиническая онкогематология: Руководство для врачей, 2-е изд., Москва «Медицина» 2007, 1120, стр. 699–700

10. Johnson J.E., Boone W.R., Blackhurst D.W. Manual versus computer-automated semen analyses. Part II. Determination of the working range of a computer-automated semen analyzer. *HamiltonThorne Research Technical Note* 2217 (July, 2001).

11. Афифи А, Эйзен С.. Статистический анализ: Подход с использованием ЭВМ. - М.: Мир, 1982; 488.

12. Справочник по прикладной статистике. В 2-х т. Т.1: Пер. с англ./ Под ред. Э.Ллойда, У.Ледермана, Ю.Н.Тюрина.- М.: Финансы и статистики, 1989; - 510с. Т. 2: 1990; - 526с.

13. Леонов В.П. Обработка экспериментальных данных на программируемых микрокалькуляторах. Томск, изд-во ТГУ. - 1990. - 376с.

14. Кендалл М., Стьюарт А. Статистические выводы и связи. Пер. с англ. М.: Главная редакция физ.-мат. литературы. 1973, с. 899.

15. WHO laboratory manual for examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction / пер. с англ. Р.А.Нерсеяна под научн. ред. рус. перевода Л.Ф. Курило — 4-е издание. — М.: Изд-во «МедПресс», 2001. — 144 с.

16. van der Kaaij M.A., Heutte N., van Echten-Arends J., Raemaekers J.M., Carde P. et.al. Sperm quality before treatment in patients with early stage Hodgkin's lymphoma enrolled in EORTC-GELA Lymphoma Group trials. 2009 Dec;94(12):1691-7. Epub 2009 Oct 22.

17. Rueffer U., Breuer K., Josting A. et.al. Male gonadal dysfunction in patients with Hodgkin disease prior to treatment. *Ann of Oncol.* Vol 12 №9 Sept 2001 p1307-1313.

18. Bahadur G., Ozturk O., Muneer A., Wafa R. et.al. Hum Reprod. Semen quality before and after gonadotoxic treatment. 2005 Mar;20(3):774-81. Epub 2005 Feb 2.

19. Buch J.P., Colon T.F., Maulik N. et. al. Cytokines stimulate lipid membrane peroxidation of human sperm. *Fertil Steril* 1994. 62 186-8

20. Dousset B., Hussenet F., Daudin M. et. al. Seminal cytokine concentrations. (IL-1p, IL-2, IL-6, sR IL2, sR IL-6), semen parameters and blood hormonal status in male infertility *Hum Reprod* 1997, 12 1476-9

21. Gruschwitz M.S., Brezinschek R., Brezinschek H.P. Cytokine levels in the seminal plasma of infertile males. *J Androl* 1996, 17' 158-63

22. Huleihel M., Lunenfeld E., Levy A. et. al. Distinct expression levels of cytokines and soluble cytokine receptors in seminal plasma of fertile and infertile men *Fertil Steril* 1996, 66 135-9

23. Schulte H.M., Bamberger C.M., Elsen H. et. al. Systemic interleukin-1 alpha and interleukin-2 secretion in response to acute stress and to corticotropin-releasing

hormone in humans. *Eur J Clin Invest* 1994, 24 773-7

24. Shimonovitz S., Barak V., Zakut D. et. al. High concentration of soluble interleukin-2 receptors in ejaculate with low sperm motility. *Hum Reprod* 1994. 9 653-5

25. Bahadur G., Gandini L., Lombardo F., Salacone P., Paoli D., Anselmo A.P., Culasso F., Dondero F. and Lenzi A. (2003) Testicular cancer and Hodgkin's disease: evaluation of semen quality. *Hum Reprod* 18,796–801.

26. Sieniawski M., Reineke T., Nogova L., Diehl V. et al. Fertility in male patients with advanced HL treated with BEACOPP. *Blood* 2008 Jan 1;111(1):71–6.

27. Пивник А.В., Расстриин Н.А., Моисеева Т.Н. и соавт. Результаты лечения лимфогранулематоза по

протоколу МОРР-ABVD в сочетании с лучевой терапией (десятилетнее наблюдение). *Тер. архив* 2006, № 8,57-62

28. Hamilton V.M., Norris C., Bunin N., Goldwein J.W., Bunin G.R., Lange B., Meadows A.T. Cyclophosphamide-based, seven-drug hybrid and low-dose involved field radiation for the treatment of childhood and adolescent Hodgkin disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2001;23(2):84–8.

29. Винокуров А. А., Варфоломеева С.Р., Тарусин Д.И. Гонадотоксичность терапии лимфомы Ходжкина у подростков и молодых мужчин: актуальность проблемы и пути решения (обзор литературы); *Онкогематология*. 2011г; № 2 - С.12-18.