

ПОТАПОВА МАРИЯ КИРИЛЛОВНА

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ НИЗКОИНТЕНСИВНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ
СЕКРЕТОРНОМ И АУТОИММУННОМ БЕСПЛОДИИ У МУЖЧИН**

3.1.13. Урология и андрология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Боровец Сергей Юрьевич – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры урологии с курсом урологии с клиникой федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Кореньков Дмитрий Георгиевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры урологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Санкт-Петербург).

Ибишев Халид Сулейманович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры урологии и репродуктивного здоровья человека (с курсом детской урологии-андрологии) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону).

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации (г. Москва).

Защита диссертации состоится _____ в ____ часов на заседании диссертационного совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, соискание ученой степени доктора наук 21.2.050.03 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6–8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова» Минздрава России и на сайте <https://www.1spbgmu.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.050.03
доктор медицинских наук,
профессор

Лазарев Сергей Михайлович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

В настоящее время бесплодие является глобальной проблемой, затрагивающей около 15 % супружеских пар в мире. Каждая восьмая пара репродуктивного возраста сталкивается с данной проблемой при планировании первого ребенка (Борисов В.В. и соавт., 2020; Лебедев Г.С. и соавт., 2019; Arafa M. et al., 2020; Park Y.S. et al., 2018). В России количество бесплодных браков в настоящее время составляет от 17 до 24 % в разных ее регионах, что представляет серьезную демографическую проблему (Первова Ю.В. и соавт., 2020; Хайрутдинов К.Н. и соавт., 2018). Согласно статистике, на долю мужского фактора инфертильности приходится около 50 % случаев бесплодия в браке; из них, в 20-30 % – мужское бесплодие сочетается с женским (Лебедев Г.С. и соавт., 2019; Черных В.Б. и соавт., 2019; Agarwal A. et al., 2020; Leung A.K., 2018). В недавно проведенном систематическом обзоре на основании 16 исследований было показано, что мужской фактор являлся одной из причин бесплодия в 50 % случаев в странах Европы, в 60-70 % – в странах Ближнего Востока, и в 43, 40 и 37 % – в странах Африки, Азии и Австралии, соответственно (Sun H. et al., 2019). Рядом авторов отмечено значительное снижение качества эякулята у мужчин за последние годы (Седова А.О., 2019; Сулима А.Н. и соавт., 2019).

Наиболее трудно поддающимися консервативному лечению в настоящее время являются идиопатическое секреторное и аутоиммунное мужское бесплодие (Fainberg, J. et al., 2019; Pan M.M., 2018). При этом, одним из важных факторов, требующих обязательной коррекции, является повышенная фрагментация ДНК сперматозоидов (ФДНКС), характеризующаяся одно- и двухцепочечными разрывами молекулы ДНК и являющаяся одной из причин не только мужского бесплодия, но и замершей беременности у супруги / половой партнерши в первом триместре, возникновения пороков и генетических аномалий плода, а также причиной предимплантационной гибели эмбриона и его замирания на ранних сроках при выполнении процедур вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) (Авадиева Н.Э., 2019; Епанчинцева Е.А. и соавт., 2020; Коршунов М.Н. и соавт., 2020; Simon L. et al., 2017).

В связи с недостаточной результативностью консервативной терапии идиопатического секреторного и аутоиммунного бесплодия в большинстве случаев приходится прибегать к использованию процедур ВРТ, которые являются весьма дорогостоящими, а их эффективность, по данным статистики, не превышает 30 % (Божедомов В.А. и соавт., 2018; Гамидов С.И. и соавт., 2017). Ввиду этого, необходимо изучение и внедрение новых эффективных неинвазивных методов консервативного лечения данных форм мужского бесплодия. Особый интерес представляет низкоинтенсивная лазерная терапия (НИЛТ) секреторной и аутоиммунной форм мужского бесплодия в ближнем инфракрасном (ИК) и красном спектрах, возможности которой недостаточно изучены в клинической практике.

Степень разработанности темы исследования

Проведенные ранее экспериментальные и клинические исследования продемонстрировали безопасность НИЛТ в ближнем ИК и красном спектрах – отсутствие её канцерогенного, мутагенного и тератогенного действия; кроме того, изучены механизмы биостимулирующего действия НИЛТ (Горюнов С.В., 1996; Владимиров Ю.А. и соавт., 2004; Мазо Е.Б. и соавт., 2019; Москвин С.В. и соавт., 2018; Ahn J.Ch. et al., 2013; Yazdi R.S. et al.,

2014; Iaffaldano N. et al., 2016; Preece D. et al., 2017). Экспериментальные исследования на нативном эякуляте мужчин и животных показали результативность данной терапии для улучшения концентрации, числа подвижных, морфологически нормальных форм сперматозоидов и их жизнеспособности при секреторном бесплодии (Гизингер О.А. и соавт., 2016; Yazdi R.S. et al., 2014; Frangez H.V. et al., 2015; Gabel C.P. et al., 2018). Однако число клинических научных исследований, посвященных изучению влияния НИЛТ на основные параметры спермограммы, невелико (Аль-Шукри С.Х. и соавт., 2015; Мазо Е.Б. и соавт., 2009; Чекмарев В.М. и соавт., 2010; Hasan P. et al., 1989). Кроме того, ранее не было исследовано влияние НИЛТ в ИК и красном спектрах на степень ФДНКС в клинической практике. Также, в проанализированной нами отечественной и зарубежной литературе, клинических исследований о влиянии НИЛТ на показатель MAR-теста и параметры эякулята мужчин с аутоиммунным бесплодием найдено не было. В ранее проведенных исследованиях авторы не оценивали влияние НИЛТ на частоту наступления беременности в супружеских парах, не проводили попыток прогнозирования эффективности данной терапии, а также поиска критериев отбора пациентов к проведению НИЛТ в ИК и красном спектрах, что требует всестороннего изучения, поскольку представляет большой интерес для клиницистов.

Цель исследования

Изучение эффективности и прогнозирование результатов НИЛТ у больных с секреторной и аутоиммунной формами мужского бесплодия.

Задачи исследования:

- 1) Оценить эффективность НИЛТ в ИК и красном спектрах на основные параметры эякулята, фрагментацию ДНК сперматозоидов и концентрацию половых и гонадотропных гормонов при секреторном мужском бесплодии;
- 2) Оценить эффективность НИЛТ в ИК спектре на динамику концентрации антиспермальных антител (АСАТ) в эякуляте у мужчин с аутоиммунным бесплодием;
- 3) Провести сравнительную оценку влияния НИЛТ в ИК и красном спектрах на параметры эякулята и фрагментацию ДНК сперматозоидов у пациентов с секреторным бесплодием;
- 4) Разработать математические модели для прогнозирования эффективности НИЛТ: в ИК и красном спектрах при секреторной олиго-, астено- и тератозооспермии, повышенной фрагментации ДНК сперматозоидов; а также НИЛТ в ИК спектре при повышенном показателе MAR-теста у больных с аутоиммунным бесплодием.

Научная новизна

В нашем исследовании мы впервые оценили влияние НИЛТ в ИК и красном спектрах на фрагментацию ДНК сперматозоидов у мужчин с секреторным бесплодием, а также влияние НИЛТ в ИК спектре на динамику АСАТ в эякуляте, основные параметры спермограммы (объем эякулята, концентрация, прогрессивная подвижность, количество морфологически нормальных форм сперматозоидов) и фрагментацию ДНК сперматозоидов у мужчин с аутоиммунным бесплодием. Нами впервые проведена многофакторная сравнительная оценка влияния НИЛТ в ИК и красном спектрах на параметры эякулята и фрагментацию ДНК сперматозоидов у пациентов с секреторным бесплодием. Кроме того, с помощью регрессионного и

дискриминантного анализом были впервые разработаны математические модели для прогнозирования эффективности НИЛТ в ИК и красном спектрах при секреторной олиго- и/или астено- и/или тератозооспермии и/или повышенной фрагментации ДНК сперматозоидов с учетом клинико-лабораторных данных обследования пациента до начала лечения. Получен патент на изобретение № 2748895 «Способ прогнозирования эффективности низкоинтенсивной лазерной терапии при секреторной астенозооспермии» Российская Федерация, 2021 г. Также впервые были разработаны математические модели для прогнозирования эффективности НИЛТ в ИК спектре при аутоиммунном мужском бесплодии. Получено решение о выдаче патента «Способ прогнозирования эффективности низкоинтенсивной лазерной терапии при аутоиммунном бесплодии у мужчин» (заявка № 2020137153 от 11.11.2020 г.). Предложены алгоритмы персонализированного отбора пациентов с секреторным и аутоиммунным бесплодием для проведения НИЛТ в ИК и красном спектрах, основанные на предварительном анализе эффективности проведенного лечения.

Теоретическая значимость работы

Доказана эффективность НИЛТ при секреторной и аутоиммунной формах мужского бесплодия, повышающая вероятность наступления беременности при естественном зачатии и в протоколах ВРТ; доказано позитивное влияние НИЛТ на основные показатели спермограммы, включая повышение концентрации, прогрессивной подвижности, улучшение морфологии сперматозоидов, а также снижение величины ФДНКС и показателя MAR-теста; доказано, что улучшение данных показателей начинается уже с момента окончания лазерной терапии и продолжается в течение двух месяцев после нее; доказано, что процедура НИЛТ приводит к увеличению свободной и общей фракций тестостерона, не оказывая неблагоприятного воздействия на концентрацию других половых и гонадотропных гормонов в плазме крови.

Практическая значимость исследования заключается в возможности:

1) прогнозирования эффективности НИЛТ в ИК и красном спектрах при секреторной олиго-, астено-, тератозооспермии и повышенной ФДНКС с учетом результатов обследования пациентов до лечения: спермограммы, степени ФДНКС, MAR-теста, уровня гонадотропных гормонов, данных ультразвукового исследования (УЗИ) органов мошонки;

2) прогнозирования эффективности НИЛТ в ИК спектре при аутоиммунном мужском бесплодии с учетом давности заболевания, а также результатов обследования пациентов до лечения: спермограммы, MAR-теста, уровня гонадотропных гормонов, результатов УЗИ органов мошонки;

3) использования в клинической практике разработанных алгоритмов персонализированного подхода к отбору пациентов для НИЛТ в ИК и красном спектрах при секреторной и аутоиммунной формах мужского бесплодия с предварительной оценкой предполагаемой эффективности лечения.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена в соответствии с современными принципами доказательной медицины. Методология исследования определена после изучения данных отечественной и зарубежной литературы, посвященной вопросам этиологии, патогенеза, лечения секреторного и аутоиммунного мужского бесплодия, а также механизмам действия

НИЛТ в ИК и красном спектрах, особенностям применения и эффективности НИЛТ в экспериментальных и клинических исследованиях. Объектом исследования были пациенты с секреторной и аутоиммунной формами мужского бесплодия, получившие курс НИЛТ в ИК или красном спектрах. Основой предмета исследования явилось изучение эффективности и прогнозирование результатов НИЛТ у больных с секреторной и аутоиммунной формами мужского бесплодия. В диссертационном исследовании использованы клинические, лабораторные и инструментальные методы обследования пациентов. Для лечения пациентов использовали отечественный лазерный аппарат «Рубин-Ц». Анализ полученных результатов проведен с помощью современных статистических программ. Разработаны математические модели для прогнозирования эффективности НИЛТ в ИК и красном спектрах при секреторном и аутоиммунном мужском бесплодии.

Исследование является проспективным, рандомизированным, слепым, плацебо-контролируемым.

Положения, выносимые на защиту:

1) При секреторном мужском бесплодии НИЛТ в ИК (длина волны 870 нм, выходная мощность 2,6 мВт, энергетическая плотность 1,1 Дж/см²) и красном (длина волны 630 нм, выходная мощность 11,2 мВт, энергетическая плотность 1,05 Дж/см²) спектрах приводит к достоверному повышению концентрации, прогрессивной подвижности и улучшению морфологии сперматозоидов, снижению повышенной фрагментации ДНК сперматозоидов в эякуляте.

2) НИЛТ в ИК (длина волны 870 нм, выходная мощность 2,6 мВт) и красном (длина волны 630 нм, выходная мощность 11,2 мВт) спектрах с одинаковой энергетической плотностью лазерного излучения, равной 1 Дж/см², имеет сопоставимую эффективность в отношении улучшения основных параметров эякулята при секреторном мужском бесплодии.

3) При аутоиммунном мужском бесплодии НИЛТ в ИК спектре (длина волны 870 нм, выходная мощность 2,6 мВт, энергетическая плотность 1,1 Дж/см²) способствует достоверному снижению показателя MAR-теста при его исходном значении 60 % и менее.

4) Разработанные прогностические модели определения эффективности НИЛТ при секреторном и аутоиммунном мужском бесплодии обладают высокой предсказательной способностью (суммарная точность предсказания не менее 71%, скорректированный R² не менее 0,655) в отношении динамики концентрации, прогрессивной подвижности, морфологии сперматозоидов, повышенной фрагментации ДНК сперматозоидов в эякуляте и величины MAR-теста.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в практику работы Отделения вспомогательных репродуктивных технологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» (г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3); Отделения вспомогательных репродуктивных технологий акционерного общества «Международный центр репродуктивной медицины» (г. Санкт-Петербург, Комендантский пр-т, д.53, к.1, лит. А).

Личное участие автора

Автором был разработан дизайн исследования, проведен анализ данных литературы, собран клинический материал, освоена методика выполнения процедур НИЛТ. Полученные в ходе исследования результаты были проанализированы с использованием современных методов статистического анализа и опубликованы в российских журналах, а также представлены на отечественных и зарубежных научных конгрессах и конференциях.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов проведенного исследования определяется его дизайном (проспективное, слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое) исследования, достаточным объемом выборки (131 пациент); применением информативных и адекватных поставленным задачам методик исследования; анализом полученных результатов с использованием современных и соответствующих задачам исследования методов статистики.

Основные результаты исследования были представлены на российских и зарубежных конференциях и конгрессах: LXXX научно-практическая конференция «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины - 2019» (Санкт-Петербург, 2019 г.); 56-я научно-теоретическая конференция на иностранных языках (Санкт-Петербург, 2019 г.); российско-японский симпозиум (Санкт-Петербург, 2019 г.); заседание секции Андрологии Европейской ассоциации урологов (Чехия, Прага, 2019 г.); научный симпозиум, посвященный 50-летию кафедры урологии Университета г. Гронинген (Нидерланды, Гронинген, 2019 г.); 965-е заседание Санкт-Петербургского научного общества урологов им. С.П. Федорова (Санкт-Петербург, 2020 г.); научно-практическая конференция «Инфекции и дисфункции мочевых и мужских половых органов» (Санкт-Петербург, 2020 г.); XX Конгресс Российского общества урологов (онлайн, 2020 г.).

Диссертационная работа прошла апробацию на заседании Проблемной комиссии №6 «Инвазивные технологии» с секциями хирургии и онкохирургии, травматологии и ортопедии и трансплантологии» ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 3 статьи – в рецензируемых журналах, входящих в перечень рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России для публикации основных научных результатов диссертаций, получен один патент Российской Федерации на изобретение, а также решение о выдаче одного патента на изобретение.

Связь с планом научных исследований

Диссертация выполнена в рамках государственного задания на осуществление научных исследований и разработок на 2018 год и плановый период 2019 и 2020 годов ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России по теме № 1 «Разработка алгоритмов диагностики и лечения больных с патозооспермией/азооспермией»; а также в соответствии с планом НИР ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» по проблеме «Разработка новых и усовершенствование существующих методов

профилактики, диагностики и лечения урологических заболеваний», утвержденной Министерством здравоохранения РФ, номер государственной регистрации 01200212891.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа представлена на 175 страницах печатного текста, иллюстрирована 63 рисунками и 27 таблицами. Работа состоит из введения, 5 глав (обзора литературы, методов обследования и лечения больных, двух глав собственных результатов и обсуждения полученных результатов), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, насчитывающего 222 источника, из них 97 отечественных, 125 – зарубежных, приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

С 2018 г. по 2020 г. в клинике урологии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России были обследованы 168 пациентов с мужским бесплодием в возрасте от 20 до 45 лет, в среднем, 33,2 (1,6) лет. Все больные подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Критериями включения в исследование были: бесплодие в браке, возраст мужчин от 18 до 45 лет, нарушение параметров спермограммы (олиго- и/или астено- и/или тератозооспермия) и/или повышение ФДНКС более 15 %, и/или повышение показателя MAR-теста более 10 %.

Всем пациентам проводили обследование, включавшее: сбор анамнеза, физикальный осмотр, спермограмму, определение АСАТ в эякуляте и степени ФДНКС. Оценивали гормональный статус мужчин: определяли концентрации в плазме крови общего и свободного тестостерона, лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), пролактина, эстрадиола, глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ). Для исключения воспалительных болезней мужских половых органов выполняли анализ эякулята методом ПЦР в реальном времени и посев эякулята на условно-патогенную флору. Для исключения новообразований яичек и предстательной железы производили оценку уровня онкомаркеров в плазме крови: альфа-фетопротейна, лактатдегидрогеназы, бета-субъединицы хорионического гонадотропина человека, простатического специфического антигена. Всем пациентам проводили УЗИ органов мошонки с использованием режима цветового доплеровского картирования.

Оценку результатов спермограммы проводили в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения 2010 г. Морфологию сперматозоидов оценивали с использованием строгих критериев тонкой морфометрии по методу Крюгера.

Наличие АСАТ в эякуляте определяли с помощью MAR-теста, который подсчитывают как соотношение нормальных, активно-подвижных форм сперматозоидов, но покрытых АСАТ, к общему количеству сперматозоидов с теми же характеристиками подвижности, выраженное в процентах. За нормативную величину MAR-теста принимали его значение ≤ 10 %. Превышение данного показателя в диапазоне от 11 до 50 % расценивали как наличие у пациентов аутоиммунного компонента, а значения от 51 до 100 % являлись признаком аутоиммунной формы мужского бесплодия.

Для оценки степени ФДНКС использовали метод SCSA, который представляет собой анализ структуры хроматина сперматозоидов и заключается в измерении подверженности их ДНК к денатурации. При этом, количество сперматозоидов с денатурированной ДНК подсчитывали с помощью проточной цитофлуориметрии. Нормативным значением ФДНКС считали <15 %.

Критериями не включения в исследование были: азооспермия, криптозооспермия, гемоспермия, гипо- и гипергонадотропный гипогонадизм, гиперпролактинемия, варикоцеле (II и III стадии), гидроцеле, воспалительные заболевания уретры и мужских половых органов в фазе активного воспаления, новообразования органов мошонки и предстательной железы, тяжелая сопутствующая патология (гипертиреозидизм, сахарный диабет и др.), системные заболевания, женский фактор infertility.

После применения критериев не включения для лечения был отобран 131 мужчина. Все пациенты были разделены на две группы в зависимости от формы мужского бесплодия: группу «секреторное бесплодие» (84 мужчины) и группу «аутоиммунное бесплодие» (47 мужчин). В группе «секреторное бесплодие» путем рандомизации больные были разделены на три подгруппы: пациентам 1-й подгруппы (n=34) проводили НИЛТ в ИК спектре, 2-й (n=32) – НИЛТ в красном спектре, 3-й (сравнения) (n=18) – плацебо-лазеротерапию. В группе «аутоиммунное бесплодие» путем рандомизации больные были разделены на две подгруппы: 4-ю (n=31), пациентам которой проводили НИЛТ в ИК-спектре, и 5-ю (сравнения) (n=16), в которой проводили плацебо-лазеротерапию (рисунок 1).

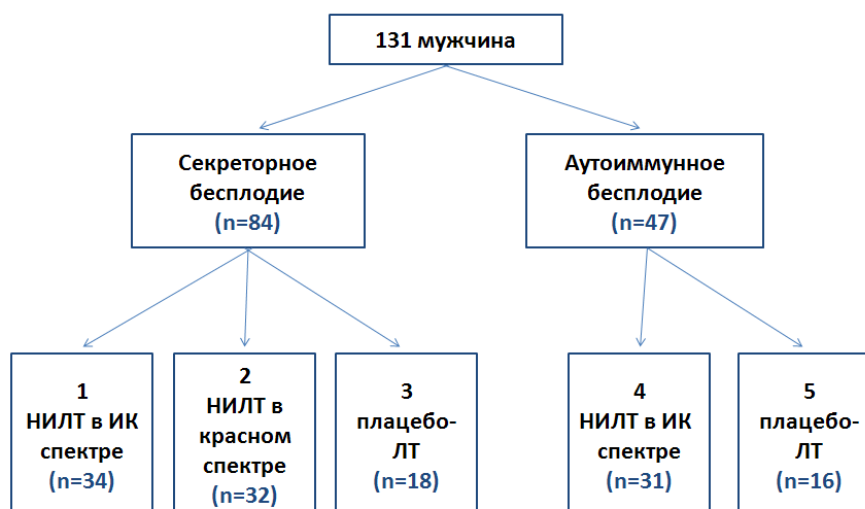


Рисунок 1 – Схематическое представление распределения пациентов по группам и подгруппам

Примечание — НИЛТ – низкоинтенсивная лазерная терапия; ИК – инфракрасный; ЛТ – лазеротерапия.

Сразу после лечения, через один и два месяца после него мужчинам проводили контрольное обследование, включавшее: спермограмму, MAR-тест, определение ФДНКС и гормонального статуса пациентов (ФСГ, ЛГ, тестостерон общий, тестостерон свободный, ГСПГ, пролактин, эстрадиол).

Пациенты с секреторным бесплодием 1-й, 2-й и 3-й подгрупп до лечения достоверно не различались по возрасту, давности заболевания, а также основным параметрам

спермограммы (таблица 1). Концентрации гормонов в плазме крови до лечения у пациентов данных подгрупп также значимо не различались.

Таблица 1 – Характеристика пациентов с секреторным бесплодием до терапии

Параметр	Подгруппа 1 (n=34)	Подгруппа 2 (n=32)	Подгруппа 3 (n=18)	P-value
Возраст, лет	34,0 (5,3)	34,1 (5,9)	34,4 (4,6)	0,93*; 0,74**; 0,82***
Давность заболевания, мес	25,5 (16,5)	27,0 (9,8)	27,7 (15,8)	0,65*; 0,64**; 0,87***
Объем эякулята, мл	3,6 (1,6)	3,2 (1,5)	3,4 (1,3)	0,26*; 0,53**; 0,52***
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	50,9 (36,1)	52,5 (40,8)	50,3 (37,0)	0,67*; 0,90**; 0,64***
Прогрессивная подвижность сперматозоидов, %	28,6 (13,5)	32,6 (12,8)	32,6 (10,0)	0,22*; 0,23**; 1,00***
Число морфологически нормальных форм сперматозоидов, %	2,9 (1,8)	3,2 (2,2)	3,2 (1,6)	0,78*; 0,31**; 0,54***
Жизнеспособность сперматозоидов, %	61,5 (17,4)	64,4 (12,3)	62,6 (13,8)	0,09*; 0,10**; 0,76***
Концентрация лейкоцитов, млн/мл	0,2 (0,2; 0,3)	0,2 (0,1; 0,4)	0,3 (0,2; 0,5)	0,97*; 0,40**; 0,52***
ФДНКС, %	11,3 (6,9)	11,2 (7,6)	9,7 (7,3)	0,99*; 0,45**; 0,47***

Примечание — * – различие между значениями показателей в 1-й и 2-й подгруппах; ** – различие между значениями показателей в 1-й и 3-й подгруппах; *** – различие между значениями показателей во 2-й и 3-й подгруппах.

Среди нарушений спермограммы у пациентов 1-й, 2-й и 3-й подгрупп наиболее часто выявляли снижение подвижности и морфологии сперматозоидов (рисунок 2).



Рисунок 2 – Частота встречаемости нормозооспермии и различных видов патозооспермии у пациентов 1-й, 2-й и 3-й подгрупп с секреторным бесплодием

Повышенная ФДНКС была выявлена у 41 % мужчин с секреторным бесплодием 1-й подгруппы, у 34 % – 2-й и 39 % – 3-й. Величина MAR-теста у пациентов всех трех подгрупп была в пределах нормативных значений.

В группу пациентов с аутоиммунным бесплодием (47 человек) были включены больные, у которых величина MAR-теста была выше 50 %, а также со значением MAR-теста от 11 до 50 %. Других причин возникновения инфертильности у этих больных диагностировано не было. Пациенты с аутоиммунным бесплодием 4-й и 5-й подгрупп до лечения достоверно не различались по возрасту, давности заболевания, а также основным параметрам спермограммы и ФДНКС (таблица 2). Концентрации гормонов в плазме крови до лечения у больных также достоверно не различались.

Таблица 2 – Характеристика пациентов с аутоиммунным бесплодием до терапии

Параметр	Подгруппа 4 (n=31)	Подгруппа 5 (n=16)	P-value
Возраст, лет	33,4 (4,7)	32,9 (4,3)	0,71
Давность заболевания, мес	24,5 (11,4)	24,0 (8,8)	0,86
Объем эякулята, мл	3,2 (1,3)	3,1 (1,0)	0,90
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	61,4 (50,0)	56,7 (44,3)	0,18
Прогрессивная подвижность сперматозоидов, %	33,2 (14,4)	32,0 (10,5)	0,73
Число морфологически нормальных форм сперматозоидов, %	3,7 (1,9)	3,5 (1,6)	0,26
Жизнеспособность сперматозоидов, %	63,1 (12,9)	58,0 (13,1)	0,22
Концентрация лейкоцитов, млн/мл	0,2 (0,1; 0,3)	0,2 (0,2; 0,4)	0,06
ФДНКС, %	12,8 (7,7)	13,3 (8,9)	0,83

Показатель MAR-теста у пациентов 4-й подгруппы варьировал от 11 до 100%, и, в среднем, составил 52,9 (28,1) %; а у мужчин 5-й подгруппы – от 12 до 100 %, и, в среднем, составил 53,7 (29,9) %. Значимых различий между уровнем MAR-теста у пациентов данных подгрупп не было ($p=0,92$).

У 21 из 31 (68 %) мужчин 4-й подгруппы уровень MAR-теста находился в диапазоне от 51 до 100 %, а у 10 из 31 (32 %) – в диапазоне от 11 до 50 %. В 5-й подгруппе у 12 из 16 (75 %) пациентов уровень MAR-теста находился в диапазоне от 51 до 100 %, и у 4 из 16 (25 %) – в диапазоне от 11 до 50 %. У большинства пациентов обеих подгрупп повышение MAR-теста сопровождалось патозооспермией, а также повышенной ФДНКС.

У больных 4-й и 5-й подгрупп до лечения преобладали астено- и тератозооспермия, как по отдельности, так и в сочетании. При этом, нормозооспермию определяли только у 13 и 6 % пациентов, соответственно. У 9 из 31 (29 %) мужчин 4-й подгруппы и у 6 из 16 (37,5 %) – 5-й подгруппы была выявлена повышенная степень ФДНКС.

НИЛТ проводили на базе межклинического отделения центра лазерной медицины Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. Для проведения процедур использовали отечественный физиотерапевтический светодиодный лазерный аппарат ОСТУ-01 «Рубин-Ц».

Мужчинам 1-й подгруппы (с секреторным бесплодием) и 4-й подгруппы (с аутоиммунным бесплодием) курс НИЛТ проводили в ИК спектре, с длиной волны лазерного излучения 870 нм. Установленная выходная мощность составляла 2,58 мВт. Энергетическая плотность лазерного излучения составила 1,1 Дж/см². Курс НИЛТ состоял из 10 процедур, которые проводили через день. При этом, воздействие на тестикулярные ткани осуществляли неинвазивно, контактно, чрескожно, в непрерывном режиме на шесть точек каждого яичка, время экспозиции на одну точку – 1,5 минуты. Зоны воздействия низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) в ИК спектре на ткани правого и левого яичек, а также их очередность, представлены на рисунке 3.

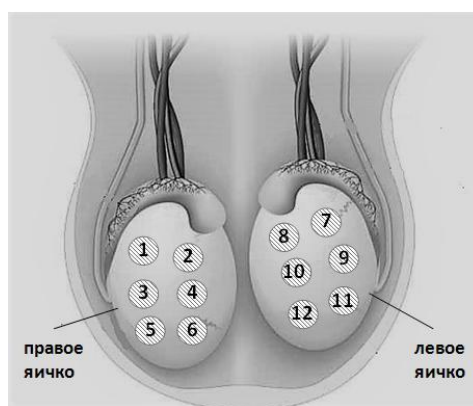


Рисунок 3 – Схематическое изображение зон воздействия НИЛИ в ИК спектре на ткани правого и левого яичек

Пациентам 2-й подгруппы с секреторным бесплодием курс НИЛТ проводили в красном спектре, с длиной волны лазерного излучения 630 нм. Установленная выходная мощность составляла 11,2 мВт. Энергетическая плотность лазерного излучения составила 1,05 Дж/см². Курс НИЛТ состоял из 10 процедур, которые проводили через день. Воздействовали на тестикулы неинвазивно, контактно, чрескожно, в непрерывном режиме на две точки каждого яичка, время экспозиции на одну точку – 5 минут. Зоны воздействия НИЛИ в красном спектре на ткани правого и левого яичек, а также их очередность, представлены на рисунке 4.

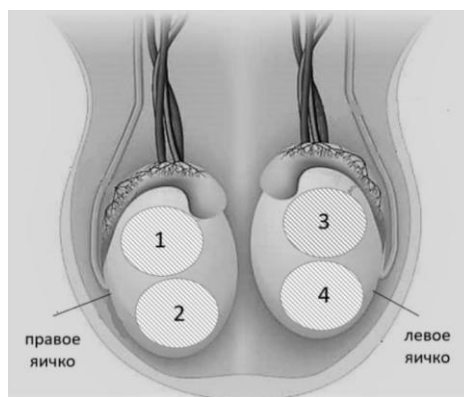


Рисунок 4 – Схематическое изображение зон воздействия НИЛИ в красном спектре на ткани правого и левого яичек

Для возможности сравнения эффективности ИК и красного спектров НИЛИ в нашей работе в качестве основного показателя была использована энергетическая плотность лазерного излучения, равная 1 Дж/см². Рассчитанная нами энергетическая плотность является биостимулирующей, не вызывающей угнетающего действия на процессы сперматогенеза (Горюнов С.В., 1996; Москвин С.В. и соавт., 2016).

В 3-й подгруппе пациентов (с секреторным бесплодием) и 5-й подгруппе (с аутоиммунным бесплодием), которые являлись подгруппами сравнения, мужчинам проводили курс плацебо-лазеротерапии с отключенным диодным излучением. Им выполняли 10 процедур, через день. Зоны и время воздействия на ткани правого и левого яичек были такими же, как и при НИЛИ в ИК спектре (шесть точек, по 1,5 минуты на каждую).

Статистический анализ собранного материала выполняли на ЭВМ с использованием стандартного пакета программ прикладного статистического анализа (SPSS Statistics for Windows v. 20.0). Если выборочные распределения были согласованы с нормальным, то использовали методы параметрической статистики, если нет – применяли ранговые методы. Для выборок, согласованных с нормальным распределением, описательная статистика содержит размер выборки, среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD), минимальное и максимальное значения [min; max]. Для выборочных распределений, не согласованных с нормальным, описательную статистику представляли размером выборки, медианой (Me), а также 25-м и 75-м перцентилями [25 %; 75 %].

При сравнении связанных выборок для оценки результатов до и после лечения в каждой подгруппе применяли парный критерий Стьюдента для нормальных выборок и парный критерий Вилкоксона для негауссовских выборок. Для определения различий эффективности НИЛТ между двумя разными подгруппами пациентов использовали параметрический t-критерий Стьюдента или ранговый критерий Манна-Уитни.

При статистической обработке нечисловых данных подсчитывали количество объектов с соответствующими нечисловыми характеристиками. Описательная статистика содержала доли (проценты) представительства каждой характеристики в выборке. В случае счетных данных для поиска различий использовали точный критерий Фишера и критерий χ^2 Пирсона.

Для прогнозирования эффективности НИЛТ в отношении улучшения параметров эякулята, снижения ФДНКС и показателя MAR-теста у пациентов с секреторным и аутоиммунным бесплодием использовали регрессионный и дискриминантный анализы.

Критический уровень значимости принимали равным 0,05 во всех случаях проверки гипотез.

Результаты исследования

Результаты низкоинтенсивной лазерной терапии больных секреторным и аутоиммунным бесплодием

У пациентов с секреторным бесплодием 1-й и 2-й подгрупп в результате проведенной НИЛТ в ИК и красном спектрах, соответственно, мы наблюдали достоверное улучшение основных параметров спермограммы (концентрации, прогрессивной подвижности сперматозоидов, числа их морфологически нормальных форм), а также снижение повышенной ФДНКС.

Концентрация сперматозоидов достоверно повышалась у пациентов 1-й подгруппы, в среднем, с 50,9 (36,1) млн/мл до 56,3 (37,6) млн/мл сразу после НИЛТ в ИК спектре ($p=0,041$) и

до 62,4 (38,4) млн/мл через один месяц ($p=0,004$); а у пациентов 2-й подгруппы – в среднем, с 52,5 (40,8) млн/мл до 58,0 (38,2) млн/мл сразу после НИЛТ в красном спектре ($p=0,018$) и до 58,9 (36,5) млн/мл через один месяц ($p=0,028$) после лечения; что было эффективнее результатов, полученных в 3-й подгруппе (плацебо-лазеротерапии) ($p<0,05$) (рисунок 5).

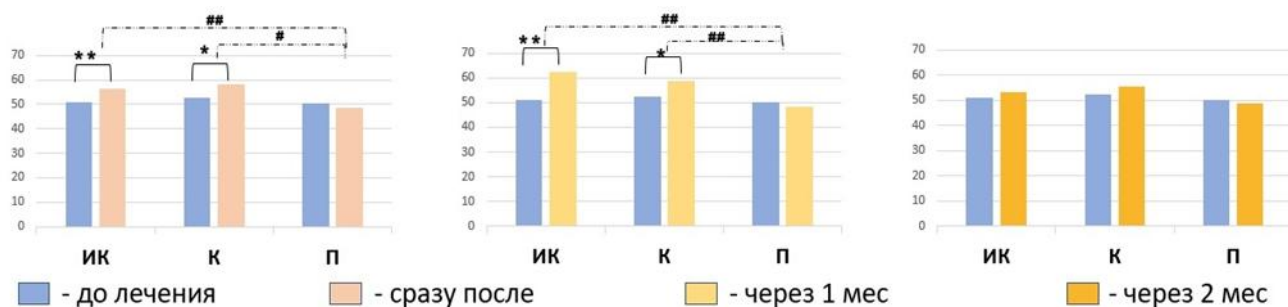


Рисунок 5 – Динамика концентрации сперматозоидов (млн/мл) до и после НИЛТ в ИК, красном спектрах и плацебо-лазеротерапии у пациентов с секреторным бесплодием

Примечание — ИК – инфракрасный спектр; К – красный спектр; П – плацебо-лазеротерапия; *, ** – различия значимы по сравнению с показателем концентрации сперматозоидов до лечения (* – $p<0,05$; ** – $p<0,01$); #, ## – различия в показателе прироста концентрации сперматозоидов значимы по сравнению с плацебо-лазеротерапией (# – $p<0,05$; ## – $p<0,01$).

Улучшение прогрессивной подвижности сперматозоидов мы отмечали у пациентов 1-й подгруппы, в среднем, с 28,6 (13,5) % до 35,4 (13,7) % сразу после курса НИЛТ в ИК спектре ($p=0,002$), до 34,1 (12,9) % через один месяц ($p<0,001$) и до 33,3 (13,6) % через два ($p=0,011$) месяца после лечения; у мужчин 2-й подгруппы – в среднем, с 32,6 (12,8) % до 36,0 (11,8) % сразу после НИЛТ в красном спектре ($p=0,023$), до 37,0 (11,1) % через один месяц ($p<0,001$) и до 37,9 (10,2) % через два месяца ($p<0,001$) после лечения, что было эффективнее плацебо-лазеротерапии ($p<0,05$) (рисунок 6).

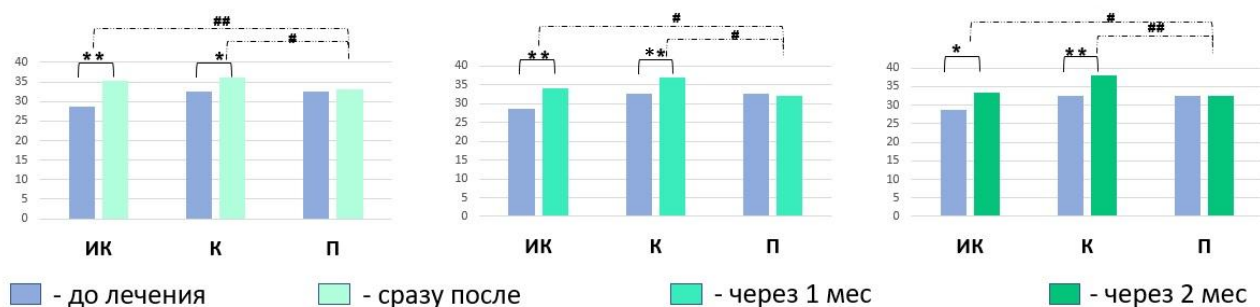


Рисунок 6 – Динамика прогрессивной подвижности сперматозоидов (%) до и после НИЛТ в ИК, красном спектрах и плацебо-лазеротерапии у пациентов с секреторным бесплодием

Примечание — ИК – инфракрасный спектр; К – красный спектр; П – плацебо-лазеротерапия; *, ** – различия значимы по сравнению с показателем прогрессивной подвижности сперматозоидов до лечения (* – $p<0,05$; ** – $p<0,01$); #, ## – различия в показателе прироста прогрессивной подвижности сперматозоидов значимы по сравнению с плацебо-лазеротерапией (# – $p<0,05$; ## – $p<0,01$).

Число морфологически нормальных форм сперматозоидов достоверно повышалось в 1-й подгруппе после НИЛТ в ИК спектре, в среднем, с 2,9 (1,8) % до 3,4 (1,6) % сразу после лечения

($p=0,027$), до 3,7 (2,1) % через один месяц ($p=0,004$) и до 3,5 (1,6) % через два месяца ($p=0,005$) последующего наблюдения; а во 2-й подгруппе – сразу после курса НИЛТ в красном спектре, в среднем, с 3,2 (2,2) % до 4,0 (1,9) % ($p<0,001$), через один месяц до 3,7 (1,8) % ($p=0,004$) и до 3,6 (1,9) % через два месяца ($p=0,009$) после лечения. Полученные результаты были достоверно эффективнее, чем в 3-й подгруппе (плацебо-лазеротерапии) ($p<0,05$), где мы не наблюдали положительной динамики в течение периода наблюдения (рисунок 7).

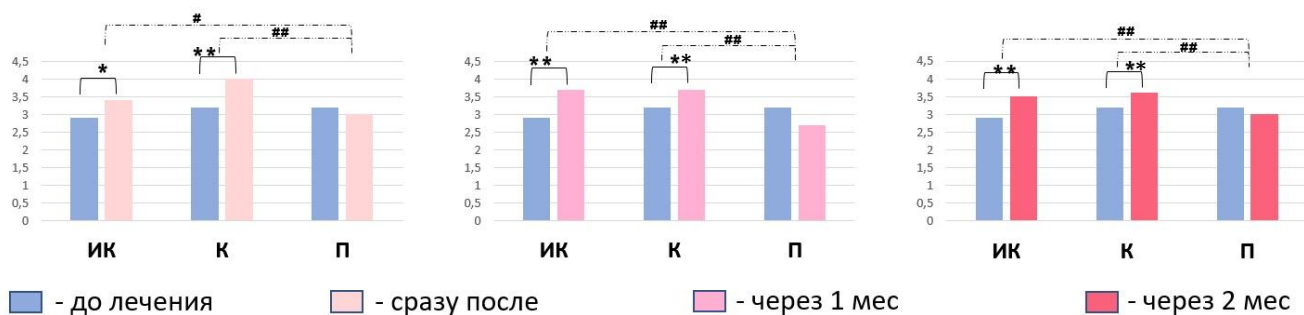


Рисунок 7 – Динамика числа морфологически нормальных форм сперматозоидов (%) до и после НИЛТ в ИК, красном спектрах и плацебо-лазеротерапии у пациентов с секреторным бесплодием

Примечание — ИК – инфракрасный спектр; К – красный спектр; П – плацебо-лазеротерапия; *, ** – различия значимы по сравнению с показателем числа морфологически нормальных форм сперматозоидов до лечения (* – $p<0,05$; ** – $p<0,01$); #, ## – различия в показателе прироста числа морфологически нормальных форм сперматозоидов значимы по сравнению с плацебо-лазеротерапией (# – $p<0,05$; ## – $p<0,01$).

Достоверное снижение повышенной ФДНКС у пациентов 1-й (ИК спектр) и 2-й (красный спектр) подгрупп мы наблюдали уже сразу после курса НИЛТ, с наилучшим эффектом к концу второго месяца наблюдения, в среднем, на 58,4 (19,1) % ($p<0,001$) и 55,2 (24,9) % ($p<0,001$) от исходных значений, соответственно, что было эффективнее плацебо-лазеротерапии ($p<0,01$) (рисунок 8).

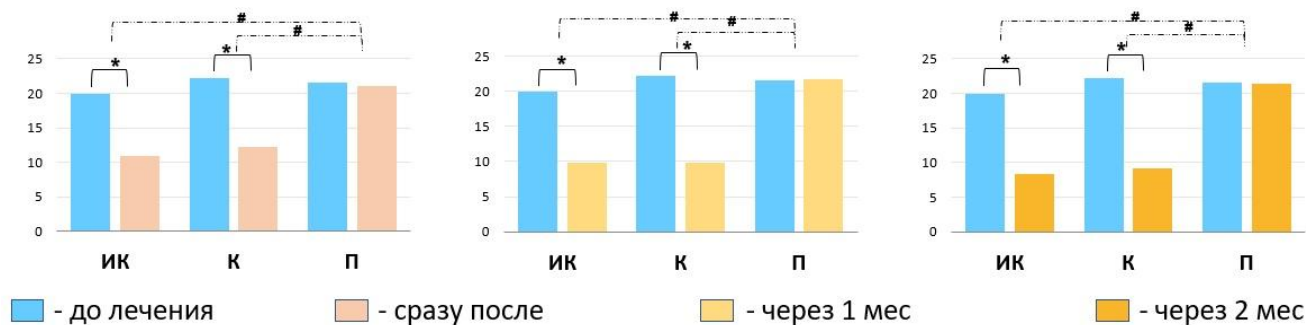


Рисунок 8 – Динамика повышенной ФДНКС (%) до и после НИЛТ в ИК, красном спектрах и плацебо-лазеротерапии у пациентов с секреторным бесплодием

Примечание — ИК – инфракрасный спектр; К – красный спектр; П – плацебо-лазеротерапия; * – различия значимы по сравнению с показателем повышенной ФДНКС до лечения ($p<0,01$); # – различия в показателе снижения повышенной ФДНКС значимы по сравнению с плацебо-лазеротерапией ($p<0,01$).

Повышение прогрессивной подвижности сперматозоидов, возникающее практически сразу после воздействия НИЛИ в ИК и красном спектрах на ткани яичек, очевидно, связано с увеличением синтеза АТФ вследствие фотостимуляции цитохром с-оксидазы, находящейся во внутренней мембране митохондрий сперматозоидов (Москвин С.В. и соавт., 2017; Albuquerque-Pontes G.M. et al., 2015; Ferraresi C. et al., 2015). Кроме того, НИЛТ способствует синтезу нуклеиновых кислот и белков, активации и прогрессии клеточного цикла, а также активации редокс-чувствительных факторов транскрипции и экспрессии большого числа генов, регулирующих клеточную пролиферацию, жизнеспособность, цитопротекцию, что также может быть объяснением не только повышения числа морфологически нормальных форм сперматозоидов после воздействия НИЛИ в ИК и красном спектрах, но и повышения концентрации сперматозоидов сразу после курса НИЛТ (Ahn J.Ch. et al., 2013; Migliario M. et al., 2018; Mustaff R.A. et al., 2019). Предполагаемым механизмом действия НИЛТ на снижение ФДНКС является фотомодификация активности антиоксидантных ферментов и фотодиссоциация нитрозильных комплексов, что приводит к снижению продуктов свободнорадикального окисления в тканях и нивелированию негативного влияния оксидативного стресса на целостность структуры ДНК сперматозоидов. Другим возможным механизмом влияния НИЛТ на ФДНКС является способность лазерного излучения воздействовать на процессы репарации полового хроматина, что способствует репарации нитей ДНК сперматозоидов (Chen A.C-H. et al., 2009; Migliario M. et al., 2018).

Кроме того, результатом НИЛТ в ИК и красном спектрах пациентов с секреторным бесплодием явилось достоверное повышение концентрации общего и свободного тестостерона в плазме крови. Концентрация общего тестостерона в плазме крови пациентов 1-й подгруппы достоверно повышалась, в среднем, с 15,6 (5,7) нмоль/л до 18,2 (4,9) нмоль/л сразу после НИЛТ в ИК спектре ($p=0,003$), до 18,5 (5,6) нмоль/л через 1 месяц ($p<0,001$), и до 17,8 (5,9) нмоль/л через 2 месяца ($p<0,001$) после лечения; а во 2-й подгруппе – в среднем, с 17,1 (5,5) нмоль/л до 19,4 (5,2) сразу после НИЛТ в красном спектре ($p<0,001$), до 20,1 (5,8) нмоль/л через один месяц ($p<0,001$) и до 20,1 (5,8) нмоль/л ($p<0,001$) через два месяца после лечения. А повышение концентрации свободного тестостерона в плазме крови пациентов 1-й подгруппы мы наблюдали через один месяц после лечения, в среднем, с 39,2 (18,0) пмоль/л до 45,6 (13,4) пмоль/л ($p<0,001$); а во 2-й подгруппе – сразу после и через один месяц после курса НИЛТ в красном спектре, в среднем, с 41,9 (15,6) пмоль/л до 44,3 (15,2) пмоль/л ($p=0,009$) и 47,9 (15,0) пмоль/л ($p<0,001$), соответственно. Полученные результаты в обеих подгруппах были достоверно выше, чем в 3-й (плацебо-лазеротерапии) ($p<0,01$). Концентрации других определяемых нами гормонов в плазме крови пациентов после лечения и в течение двух месяцев последующего наблюдения достоверно не изменялись.

Наблюдаемое нами повышение концентрации общего и свободного тестостерона в плазме крови мужчин с секреторным бесплодием после НИЛТ в ИК и красном спектрах мы связываем со стимуляцией клеток Лейдига вследствие улучшения микроциркуляции тканей яичек, в результате чего также активируются клетки Сертоли, и, в итоге, происходит улучшение основных параметров эякулята. Восстановление микроциркуляции в тканях яичек, по нашему мнению, происходит под действием НИЛИ, способствующему выработке оксида азота, который обладает сосудорасширяющим эффектом. Кроме того, известно, что выделение оксида азота приводит к повышению активности дыхательной цепи митохондрий (Москвин С.В., 2014; Ahn J.Ch. et al., 2013; Migliario M. et al., 2018).

На основании полученных результатов лечения пациентов 1-й и 2-й подгрупп мы провели сравнительный статистический анализ эффективности НИЛТ в ИК и красном спектрах в отношении улучшения основных параметров эякулята и снижения ФДНКС, который в целом показал сопоставимые результаты, только улучшение концентрации сперматозоидов через один месяц после НИЛТ в ИК спектре оказалось достоверно выше, чем в красном ($p=0,021$).

В результате НИЛТ беременности наступили у 10 из 34 (29%) супружеских пар в 1-й подгруппе (из них у 7 – в естественном репродуктивном цикле и 3 – с использованием процедур ВРТ); и у 9 из 32 (28%) – во 2-й (из них у 8 – в естественном репродуктивном цикле и 1 – с использованием процедур ВРТ). В 3-й подгруппе (плацебо-лазеротерапии) беременности не наступали. Побочных эффектов и осложнений во время и после лечения не наблюдали.

Второй блок нашего исследования включал анализ эффективности НИЛТ при аутоиммунном мужском бесплодии. У пациентов 4-й подгруппы результатом НИЛТ в ИК спектре явилось значимое снижение MAR-теста как сразу после курса лечения ($p<0,001$), так и через один ($p<0,001$) и два месяца после него ($p<0,001$). Важно отметить, что у 21 из 31 (68 %) больных 4-й подгруппы показатель MAR-теста до лечения находился в диапазоне от 51 до 100 %, и, в среднем, составлял 68,6 (18,5) %. Сразу после курса НИЛТ у этих пациентов данный показатель снизился в среднем до 56,8 (26,9) % ($p<0,001$), через один месяц после НИЛТ – до 50,7 (31,5) % ($p<0,001$), а через два месяца после лечения – до 44,0 (35,8) % ($p<0,001$), что оказалось эффективнее плацебо-лазеротерапии ($p<0,001$) (рисунок 9). При этом, достоверное снижение показателя MAR-теста после НИЛТ в ИК спектре мы наблюдали только у пациентов с исходным значением данного показателя не выше 60 %.

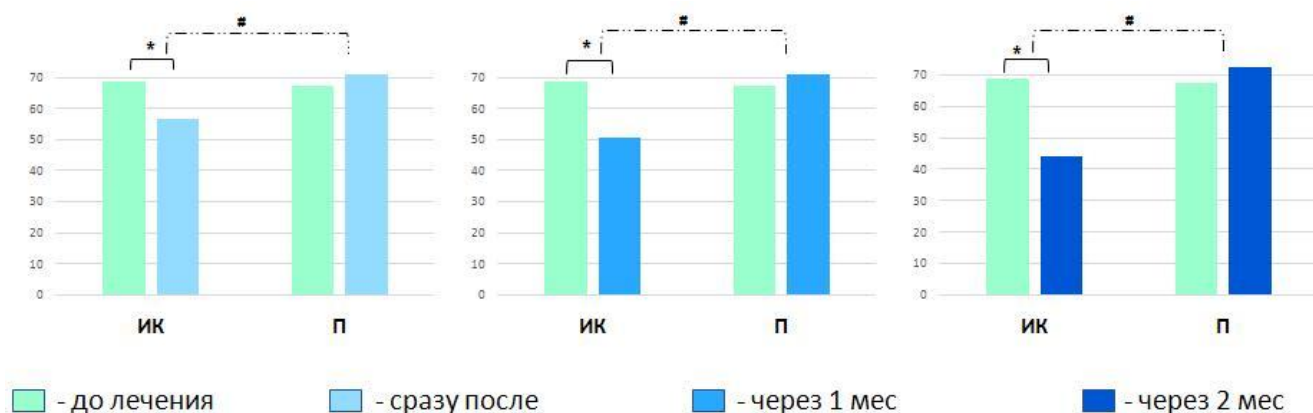


Рисунок 9 – Динамика показателя MAR-теста (%) до и после НИЛТ в ИК спектре и плацебо-лазеротерапии у пациентов с аутоиммунным бесплодием

Примечание — ИК – инфракрасный спектр; П – плацебо-лазеротерапия; * – различия значимы по сравнению с показателем MAR-теста до лечения ($p<0,001$); # – различия в показателе снижения MAR-теста значимы по сравнению с плацебо-лазеротерапией ($p<0,001$).

По нашему мнению, кроме уже достаточно изученного антиоксидантного и иммуностабилизирующего механизмов, снижение MAR-теста может быть обусловлено опосредованным действием НИЛТ на стабилизацию мембранного потенциала сперматозоидов, что предотвращает фиксацию на них АСАТ, приводящую к агглютинации и агрегации сперматозоидов. Кроме того, НИЛТ способствует постепенному восстановлению поврежденного гемато-тестикулярного барьера из-за улучшения микроциркуляции тканей и

интенсификации обменных процессов. Восстановление целостности гематотестикулярного барьера предотвращает дальнейший контакт иммунокомпетентных клеток с антигенными структурами эпителио-сперматогенного слоя яичек (Симодейко А.А., 1994; Tadakuma T., 1993).

Также у пациентов 4-й подгруппы НИЛТ в ИК спектре приводила к достоверному улучшению основных параметров спермограммы. Сразу после курса лечения достоверно повышалась прогрессивная подвижность сперматозоидов ($p=0,032$); через один и два месяца – концентрация ($p=0,018$ и $p=0,020$), прогрессивная подвижность ($p=0,006$ и $p=0,001$) сперматозоидов, а также число их морфологически нормальных форм ($p=0,043$ и $p=0,030$) и жизнеспособность ($p=0,047$ и $p=0,008$). Полученные результаты были достоверно выше, чем в 5-й подгруппе (плацебо-лазеротерапии).

Кроме того, у 11 из 31 (35 %) пациентов 4-й подгруппы с исходно повышенным уровнем ФДНКС до начала лечения, который, в среднем, составлял 20,9 (6,5) %, сразу после курса НИЛТ было отмечено снижение ФДНКС, в среднем, до 15,0 (5,5) % ($p=0,039$), через один месяц после лечения – до 13,5 (2,9) % ($p=0,008$), а через два месяца – до 10,9 (3,7) % ($p=0,002$).

Важно отметить, что в 4-й подгруппе после проведенного курса НИЛТ в ИК спектре беременности наступили у 8 из 31 (26%) супружеских пар (из них у 7 – в естественном репродуктивном цикле и 1 – с использованием процедур ВРТ), в то время как в подгруппе плацебо-лазеротерапии беременности не наступали. В процессе лечения и последующего наблюдения пациентов побочных эффектов и осложнений отмечено не было.

В связи с установленной в ходе нашего исследования высокой эффективностью НИЛТ при лечении секреторного и аутоиммунного мужского бесплодия возникла необходимость в прогнозировании её результатов до начала планируемого лечения, причем индивидуально для каждого больного.

Прогнозирование результатов низкоинтенсивной лазерной терапии больных секреторным и аутоиммунным бесплодием

На основании полученных нами результатов лечения больных с секреторным и аутоиммунным бесплодием с помощью регрессионного и дискриминантного анализов были разработаны математические модели (формулы) для прогнозирования результатов НИЛТ при олиго- и/или астено- и/или тератозооспермии, повышенной ФДНКС, а также повышенном показателе MAR-теста.

Для пациентов с секреторной олигозооспермией для прогнозирования ожидаемой после курса НИЛТ в красном спектре концентрации сперматозоидов, в результате регрессионного анализа, нами была создана математическая модель, учитывающая исходное значение данного показателя ($p<0,001$) и объем эякулята ($p=0,025$) до лечения. Уравнение линейной регрессии (скорректированный $R^2=0,978$; $F=553,44$; $p<0,001$) следующее:

$$F = 0,943 \times SpConc0 + 2,025 \times SpVol0 + 0,9,$$

где F – ожидаемая концентрация сперматозоидов после лечения (млн/мл); $SpConc0$ – концентрация сперматозоидов до лечения (млн/мл); $SpVol0$ – объем эякулята до лечения (мл).

Для пациентов с секреторной астенозооспермией с помощью дискриминантного анализа, на основании результатов лечения больных 1-й подгруппы, нами получена математическая модель, позволяющая прогнозировать вероятность нормализации прогрессивной подвижности сперматозоидов после НИЛТ в ИК спектре. Перед началом лечения необходимо определить

значение дискриминантной функции, учитывая показатели гормонального статуса пациента: концентрацию общего и свободного тестостерона, ЛГ, пролактина и эстрадиола в плазме крови. Расчет выполняют методом подстановки вышеуказанных значений в формулу:

$$D = -0,125 \times testTotal0 + 0,077 \times ftest0 + 0,199 \times lh0 + \\ + 0,010 \times prl0 + 0,003 \times est0 - 4,707,$$

где D – значение дискриминантной функции; $testTotal0$ – уровень общего тестостерона в плазме крови до лечения (нмоль/л); $ftest0$ – уровень свободного тестостерона в плазме крови до лечения (пмоль/л); $lh0$ – уровень лютеинизирующего гормона в плазме крови до лечения (МЕ/л); $prl0$ – уровень пролактина в плазме крови до лечения (мМЕ/л); $est0$ – уровень эстрадиола в плазме крови до лечения (пмоль/л).

Если в результате подстановки данных в формулу значение дискриминантной функции (D) будет меньше 0, то НИЛТ в ИК спектре будет эффективна, то есть велика вероятность нормализации прогрессивной подвижности сперматозоидов, если больше или равно 0 – ожидается отсутствие данного эффекта. Канонический коэффициент корреляции равен 0,74. Специфичность способа составляет 88,9 %, чувствительность – 77,8 %, предсказательная способность наличия эффекта – 87,5 %, предсказательная способность отсутствия эффекта – 80,0 %. На данную математическую модель получен патент на изобретение № 2748895 Российская Федерация, 2021 г.

Для больных, у которых диагностирована секреторная тератозооспермия, с целью предсказания ожидаемого количества морфологически нормальных форм сперматозоидов после НИЛТ в ИК спектре, регрессионный анализ позволил создать формулу, в которую необходимо подставить величину морфологически нормальных форм сперматозоидов до начала предполагаемого лечения ($p < 0,001$). Уравнение линейной регрессии (скорректированный $R^2 = 0,723$; $F = 81,73$; $p < 0,001$) приведено ниже:

$$F = 0,781 \times SpNormForm0 + 1,149,$$

где F – прогнозируемое число нормальных форм сперматозоидов после лечения (%); $SpNormForm0$ – количество нормальных форм сперматозоидов до лечения (%).

Для пациентов с повышенной ФДНКС с помощью регрессионного анализа была получена математическая модель, позволяющая рассчитать предполагаемое изменение уровня ФДНКС после НИЛТ в ИК спектре относительно исходного значения. Для этого в формулу необходимо подставить значение ФДНКС до лечения ($p < 0,001$), а также величину объема левого яичка ($p = 0,002$), полученную при УЗИ мошонки. Приводим уравнение линейной регрессии (скорректированный $R^2 = 0,738$; $F = 44,58$; $p < 0,001$):

$$F = -0,978 \times SpDNAF0 - 0,817 \times VolLT + 17,387,$$

где F – изменение (прирост или убыль) величины фрагментации ДНК сперматозоидов после лечения относительно исходного значения; $SpDNAF0$ – уровень фрагментации ДНК сперматозоидов до лечения (%); $VolLT$ – объем левого яичка до лечения ($см^3$).

Для расчета конкретного ожидаемого числа сперматозоидов с фрагментированной ДНК после НИЛТ в ИК спектре необходимо полученное значение (F) суммировать с исходным значением ФДНКС до лечения. При подсчете важно учесть, что значение (F) может быть как положительным, так и отрицательным.

С помощью дискриминантного анализа на основании результатов лечения больных 4-й подгруппы, нами также была получена математическая формула для прогнозирования нормализации показателя MAR-теста после НИЛТ в ИК спектре у мужчин с аутоиммунным бесплодием. Перед запланированным лечением необходимо выполнить спермограмму и оценить ее параметры, определить объем яичек с помощью ультразвукового исследования, после чего рассчитать значения дискриминантных функций по формуле, подставив в неё необходимые значения.

$$D = 0,027 \times spMotPr0 + 0,138 \times volLT + 0,880 \times volRT - \\ - 0,015 \times spConc0 - 13,716,$$

где D – значение дискриминантной функции; $spMotPr0$ – прогрессивная подвижность сперматозоидов до лечения (%); $volLT$ – объем левого яичка до лечения ($см^3$); $volRT$ – объем правого яичка до лечения ($см^3$); $spConc0$ – концентрация сперматозоидов до лечения (млн/мл).

Если в результате подстановки показателей прогрессивной подвижности, концентрации сперматозоидов и объема правого и левого яичек в формулу значение дискриминантной функции (D) будет меньше минус 0,774, то ожидается положительный эффект от НИЛТ в ИК спектре, то есть нормализация показателя MAR-теста; если (D) будет больше или равно минус 0,774 – ожидается отсутствие эффекта, когда показатель MAR-теста не снижается до нормативного значения. Канонический коэффициент корреляции равен 0,928. Лямбда Уилкса 0,140, статистически значима ($p=0,043$). Специфичность способа составляет 88,9 %, чувствительность – 83,6 %, предсказательная способность наличия эффекта – 86,2 %, предсказательная способность отсутствия эффекта – 81,4 %. На данную математическую модель получено решение о выдаче патента (заявка № 2020137153 от 11.11.2020 г.).

Разработанные нами модели предсказания динамики основных параметров эякулята, а также уровня ФДНКС и показателя MAR-теста у пациентов с секреторным и аутоиммунным бесплодием после НИЛТ имеют большую практическую значимость, поскольку прогнозирование улучшения фертильных свойств эякулята важно учитывать при планировании беременности, наступающей как в естественном репродуктивном цикле, так и после процедур ВРТ.

На основании созданных моделей мы разработали алгоритмы, позволяющие до лечения определить эффективность НИЛТ и выбрать оптимальный спектр лазерного излучения индивидуально для каждого больного с секреторным и аутоиммунным бесплодием, которые представлены в диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бесплодие в браке, в структуре которого 50% приходится на мужскую infertility, является одной из наиболее важных медико-социальных глобальных проблем в настоящее время (Борисов В.В., 2020; Лебедев Г.С. и соавт., 2019; Agarwal A. et al., 2020). Недостаточная результативность существующих методов консервативного лечения мужского бесплодия явилась предпосылкой к проведению нашего исследования. Мы изучили эффективность и создали математические модели, позволяющие прогнозировать результаты физиотерапевтического метода лечения – низкоинтенсивной лазерной терапии в ИК (870 нм) и красном (630 нм) спектрах при секреторном мужском бесплодии, и ИК (870 нм) – при аутоиммунном.

Проведенное нами исследование показало, что НИЛТ в ИК и красном спектрах эффективно при лечении больных, страдающих секреторным бесплодием, поскольку не только улучшает основные параметры эякулята, такие как концентрация, прогрессивная подвижность и число морфологически нормальных форм сперматозоидов, но и приводит к уменьшению числа сперматозоидов с фрагментированной ДНК. Лечение больных с аутоиммунным бесплодием с помощью НИЛТ в ИК спектре сопровождается снижением антиспермальных антител в эякуляте. При этом, в результате проведенной нами работы, мы установили, что НИЛТ в ИК спектре пациентам с аутоиммунной infertility целесообразно проводить при значении показателя MAR-теста не выше 60%.

Кроме того, вышеперечисленные эффекты НИЛТ в ИК и красном спектрах способствуют повышению вероятности наступления беременности, как в естественном репродуктивном цикле, так и после процедур ВРТ. Это позволяет рекомендовать данный вид лечения в качестве эффективного и безопасного метода прегравидарной подготовки при мужском факторе секреторного и аутоиммунного бесплодия.

Проведение процедур НИЛТ не требует дорогостоящего оборудования, лечение безопасно для пациентов. Разработанные нами алгоритмы отбора больных для НИЛТ в ИК и красном спектрах, основанные на прогнозировании ее эффективности, не имеют аналогов в отечественной и зарубежной литературе, могут быть широко использованы в клинической практике, помогают достичь персонализированного подхода к выбору данного вида лечения пациентов с секреторным и аутоиммунным бесплодием.

ВЫВОДЫ

1. НИЛТ в ИК (длина волны 870 нм, выходная мощность 2,6 мВт, энергетическая плотность 1,1 Дж/см²) и красном (длина волны 630 нм, выходная мощность 11,2 мВт, энергетическая плотность 1,05 Дж/см²) спектрах способствует достоверному улучшению основных параметров эякулята: концентрации, прогрессивной подвижности и морфологии сперматозоидов, снижению ФДНКС, повышению общей и свободной фракций тестостерона в плазме крови мужчин с секреторным бесплодием.

2. НИЛТ в ИК спектре (длина волны 870 нм, выходная мощность 2,6 мВт, энергетическая плотность 1,1 Дж/см²) способствует достоверному снижению показателя MAR-теста у пациентов с аутоиммунным бесплодием.

3. При секреторном бесплодии НИЛТ в ИК (длина волны 870 нм, выходная мощность 2,6 мВт, энергетическая плотность 1,1 Дж/см²) и красном (длина волны 630 нм, выходная мощность 11,2 мВт, энергетическая плотность 1,05 Дж/см²) спектрах в целом обладает сходной эффективностью в отношении улучшения основных параметров эякулята и снижения ФДНКС.

4. Разработанные нами математические модели позволяют с высокой точностью (суммарная точность предсказания не менее 71 %, скорректированный R² не менее 0,655) прогнозировать эффективность НИЛТ: в ИК и красном спектрах при секреторной олиго-, астено-, тератозооспермии и патологической ФДНКС; в ИК спектре при повышенном уровне MAR-теста у больных аутоиммунным бесплодием.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Перед лечением мужчин с секреторным и аутоиммунным бесплодием целесообразно рассчитывать эффективность НИЛТ в ИК и красном спектрах индивидуально для каждого пациента, используя прогностические алгоритмы, в зависимости от формы патозооспермии.
2. НИЛТ в ИК спектре при аутоиммунном мужском бесплодии следует назначать пациентам при исходном значении MAR-теста 60 % и менее.
3. НИЛТ в ИК спектре при секреторном и аутоиммунном бесплодии целесообразно выполнять по следующей методике: длина волны – 870 нм, выходная мощность – 2,6 мВт, энергетическая плотность – 1 Дж/см², непрерывный режим, воздействие осуществлять контактно на 6 точек каждого яичка, по 1,5 мин на каждую; 10 процедур через день.
4. НИЛТ в красном спектре при секреторном бесплодии целесообразно выполнять по следующей методике: длина волны – 630 нм, выходная мощность – 11,2 мВт, энергетическая плотность – 1 Дж/см², непрерывный режим, воздействие осуществлять контактно на 2 точки каждого яичка, по 5 мин на каждую; 10 процедур через день.
5. НИЛТ может быть использована при планировании беременности в естественном репродуктивном цикле, а также при подготовке пациентов к процедурам ВРТ.
6. Для повышения вероятности наступления беременности в супружеских парах, пациентам с нормальной ФДНКС рекомендуем жить половой жизнью без контрацепции в процессе прохождения курса лечения, особенно, в дни предполагаемой овуляции у супруги.
7. Пациентам с повышенной ФДНКС необходима контрацепция до нормализации данного показателя в процессе прохождения курса НИЛТ.
8. Контроль ФДНКС осуществлять сразу после окончания курса лечения, через один и через два месяца после него.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Байкалов, Н.И. Влияние низкоинтенсивной лазерной терапии на качество эякулята у больных с секреторным бесплодием / Н.И. Байкалов, М.К. Потапова // Сборник тезисов "Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2019". – 2019. – С. 282.
2. Влияние низкоинтенсивной лазерной терапии на параметры эякулята и фрагментацию ДНК сперматозоидов / М.К. Потапова, С.Ю. Боровец, Н.И. Байкалов, С.Х. Аль-Шукри // Лазерная медицина. – 2019. – Т. 23. – С. 61-62.
3. Возможности низкоинтенсивной лазерной терапии для коррекции патологической ДНК-фрагментации сперматозоидов / С.Х. Аль-Шукри, С.Ю. Боровец, М.К. Потапова, Н.И. Байкалов // Сборник трудов XV конгресса «Мужское здоровье». – 2019. – С. 103.
4. **К вопросу об эффективности низкоинтенсивной лазерной терапии в инфракрасном спектре при секреторном бесплодии у мужчин / М.К. Потапова, С.Ю. Боровец, А.В. Соколов, С.Х. Аль-Шукри, В.Н. Ткачук // Урологические ведомости. – 2019. – №4. – С. 11-17.**
5. **Наш опыт применения низкоинтенсивной лазерной терапии в красном спектре при идиопатическом секреторном бесплодии у мужчин / М.К. Потапова, С.Ю. Боровец, М.Н. Слесаревская, С.Х. Аль-Шукри // Урологические ведомости. – 2020. – Т. 10. – №3. – С. 209-216.**
6. Наш опыт применения низкоинтенсивной лазерной терапии для лечения мужчин с секреторным бесплодием / С.Х. Аль-Шукри, С.Ю. Боровец, М.К. Потапова, Н.И. Байкалов // Материалы XIX Конгресса Российского общества урологов. – 2019. – С. 336-337.
7. **Патент № 2748895 Российская Федерация МПК А61N 5/067 (2006.01), А61P 15/08 (2006.01), G01N 33/48 (2006.01), G01N 33/74 (2006.01). Способ прогнозирования эффективности низкоинтенсивной лазерной терапии при секреторной астенозооспермии: № 2020125298: заявл. 21.07.2020, опубл. 01.06.2021 / М.К. Потапова, С.Ю. Боровец, А.В. Соколов, С.Х. Аль-Шукри, А.В. Тишков. – Текст: непосредственный.**
8. **Потапова, М.К. Аутоиммунное мужское бесплодие: анализ результатов и прогнозирование эффективности низкоинтенсивной лазерной терапии в инфракрасном спектре / М.К. Потапова, С.Ю. Боровец, С.Х. Аль-Шукри // Урологические ведомости. – 2021. – Т. 11. – №1. – С. 5-13.**
9. Потапова, М.К. Возможности низкоинтенсивной лазерной терапии в красном спектре при секреторном мужском бесплодии / М.К. Потапова, С.Ю. Боровец, С.Х. Аль-Шукри // Урология. Материалы XX конгресса Российского общества урологов. – 2020. – № 5. – С. 306.
10. Роль низкоинтенсивной лазерной терапии при коррекции секреторной патозооспермии у мужчин / С.Х. Аль-Шукри, М.К. Потапова, С.Ю. Боровец, Н.И. Байкалов // Урологические ведомости. – 2019. – Том 9. – Специальный выпуск. – С. 12-13.
11. Potapova, M. Spermatogenesis stimulation with low-level laser therapy in male secretory infertility / Potapova M., Borovets S., Al-Shukri S. // The Physician Journal of International Health: [Official site]. – Epub 20.09.2020. – Text electronic: <https://www.thephysician.uk/firmst-abstract-2020-46>.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АСАТ – антиспермальные антитела;
АТФ – аденозинтрифосфат;
ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии;
ГСПГ – глобулин, связывающий половые гормоны;
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;
ИК – инфракрасный;
ИКСИ (ICSI) – инъекция сперматозоида в яйцеклетку (Intra Cytoplasmic Sperm Injection);
ЛГ – лютеинизирующий гормон;
НИЛИ – низкоинтенсивное лазерное излучение;
НИЛТ – низкоинтенсивная лазерная терапия;
ПЦР – полимеразная цепная реакция;
УЗИ – ультразвуковое исследование;
ФДНКС – фрагментация ДНК сперматозоидов;
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон;
ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение;
М – среднее значение;
MAR – MAR-тест (смешанная антиглобулиновая реакция, от англ. mixed antiglobulin reaction);
Me – медиана;
SCSA – Sperm Chromatin Structure Assay;
SD – стандартное отклонение;
SPSS – компьютерная программа (Statistical Package for the Social Science).