

Laboratorinė medicina.
2017, t. 19, Nr. 2(74), p. 109–117.

Onkologinėmis ligomis sergančių vyrų vaisingumo išsaugojimas: Lietuvos patirtis

Austėja Juškaitė¹
Živilė Gudlevičienė^{2,3}
Albertas Ulys²

Santrauka

Darbo tikslas. Apžvelgti jaunų vyrų, sergančių onkologinėmis ligomis, vaisingumo sutrikimus, vaisingumo išsaugojimo galimybes bei patirtį Lietuvoje.

Darbo metodika. Išanalizuoti pacientų, kurie nuo 2014–2016 m. dėl sėklidžių vėžio buvo operuoti Nacionaliniame vėžio institute (NVI) ar 2016 m. dėl onkohematologinės ligos buvo gydomi Vilniaus universiteto ligoninėje Santariškių klinikose (VULSK) ir vaisingumo išsaugojimo tikslu šaldė lytines ląsteles ar sėklidės audinį, spermos rodikliai pagal PSO rekomendacijas. Vertintos pacientų NVI ir VULSK charakteristikos ir spermos rodiklių skirtumai priklausomai nuo onkologinės ligos. Duomenys analizuoti naudojant *Microsoft Excel 2010* bei *SPSS 22.0* programas. Statistinio patikimumo lygmuo = 0,05.

Rezultatai. Tyrime dalyvavo 15 NVI pacientų (93,3 % diagnozuotas sėklidžių vėžys) ir 20 VULSK ligonių (30 % Hodžkino limfoma (I–IV stadijų), 20 % – leukemija, 15 % – germinacinis navikas). NVI ligoniai buvo vyresni nei VULSK – vidutiniškai 27,2 ir 23,5 metų ($p < 0,05$). Vidutinis pacientų spermos kiekis, gautas šaldymui NVI ir VULSK, statistiškai nesiskyrė ($p > 0,05$), tačiau spermatozoidų koncentracija hematologinių pacientų (VULSK) mėginiuose buvo daug didesnė negu sergančių sėklidžių vėžiu (NVI): atitinkamai 88,44 mln./ml ir 51,07 mln./ml ($p < 0,05$). Vertinant spermatozoidų judėjimo greitį pagal PSO A, B, C, D judrumo kategorijas, vidutinė greitai judančių spermatozoidų koncentracija statistiškai nesiskyrė abiejose grupėse ($p > 0,05$), tačiau VULSK ligoniai turėjo didesnę D kategorijos spermatozoidų koncentraciją ($p < 0,05$). Keturiolikos NVI ir visų VULSK ligonių sperma buvo užšaldyta. Dešimties NVI ligonių buvo užšaldytas ir sėklidės audinys.

Išvados. Spermatozoidų koncentracija hematologinių ligonių (VULSK) šaldomuose spermos mėginiuose buvo 1,7 kartus didesnė nei tų, kurie serga sėklidžių vėžiu (NVI) – atitinkamai 88,44 mln./ml ir 51,07 mln./ml ($p < 0,05$). Tačiau VULSK pacientų spermoje didžiąją dalį sudarė nejudrūs, pačios ligos pažeisti D kategorijos spermatozoidai. Sergančių sėklidžių vėžiu vyrų spermatogenezės pažeidimas pasireiškė spermatozoidų koncentracijos mažėjimu, o hematologinių pacientų – judrumo sutrikimais.

Reikšminiai žodžiai: sėklidės vėžys, onkohematologija, nevaisingumas, spermos užšaldymas, sėklidės audinio užšaldymas.

IVADAS

Sėklidžių vėžys – palyginti reta onkologinė liga, kuria suseraga apie 1 % vy-

rų. Tačiau pirminis sėklidžių vėžys yra dažniausia jaunų (20–35 metų amžiaus) vyrų onkologinė liga Jungtinės Amerikos Valstijose (JAV). Nustatyta,

¹Vilniaus universiteto
Medicinos fakultetas
Vilnius University Faculty of Medicine
El. paštas: austejajusk@gmail.com

²Nacionalinis vėžio institutas
National Cancer Institute

³Vilniaus universiteto ligoninė
Santariškių klinikos
Vilnius University Hospital
“Santariskiu Klinikos”

kad vyrų amžiaus vidurkis diagnozės nustatymo metu yra apie 33 metai, taigi šis vėžys yra jaunų ar vidutinio amžiaus vyrų liga, nors apie 7 % atvejų ji diagnozuojama vaikams ar paaugliams ir apie 7 % – vyrams, vyresniems kaip 55 metų. Nors sėklidžių vėžys palyginti reta liga, dėl nežinomų priežasčių sergamumas sėklidžių vėžiu, ypač sėklidžių seminoma, per pastarąjį šimtmetį išaugo. Pastaruoju dešimtmečiu sergamumas sėklidžių vėžiu didėjo apie 1,2 % per metus. Tačiau dėl gerėjancios ankstyvosios diagnostikos ir gydymo galimybių mirtingumas nuo šios ligos stabilizavosi, matomos sergamumo mažėjimo tendencijos. Kasmet JAV diagnozuojama apie 9000 naujų sėklidžių vėžio atvejų ir tik 350–400 mirčių nuo šios ligos registruojama kasmet. Tikimybė išsivystyti sėklidžių vėžiui per gyvenimą yra apie 1 iš 263 vyrų, o susirgus rizika numirti yra palyginti maža – apie 1 iš 5000 [1].

Vakarų Europoje sėklidžių vėžiu serga 1,4 % vyrų, o mirtingumas nuo sėklidžių vėžio yra 0,1 %. Vidurio ir Rytų Europoje vyrų sergamumas sėklidžių vėžiu yra kiek mažesnis – 1 %, tačiau mirtingumas, palyginti su Vakarų Europa, yra didesnis ir siekia 0,3 % [2]. Dažniausiai serga baltosios rasės kaukazių populiacija, kitos didelės rizikos populiacijos nustatytos Europoje (Šveicarija, Norvegija ir Danija), kur sergamumas dešimt kartų didesnis nei Azijos ir Afrikos gyventojų populiacijose [3]. Pavyzdžiui, Norvegijoje sergamumas sėklidžių vėžiu yra 12,2/100 000 vyrų, o daugumoje Azijos ir Afrikos šalių sergamumas yra mažesnis nei 0,7/100 000. Europoje, kaip ir JAV, sėklidžių vėžiu serga jauni 15–34 metų vyrai. Statistinės prognozės rodo, kad Europoje iki 2025 metų bus diagnozuota apie 23 000 naujų sėklidžių vėžio atvejų per metus, t. y. sergamumas padidės beveik 24 % nuo 2005 metų, kai buvo diagnozuota 18 400 atvejų per metus [4].

Lietuvoje, remiantis Vėžio registro duomenimis, 2012 metais sergamumas sėklidžių vėžiu buvo 1/100 000 vyrų 15–19 metų, 1,8/100 000 vyrų 20–24 metų ir 12,2/100 000 vyrų 25–29 metų, 4,5/100 000 vyrų 30–34 metų ir 7,5/100 000 vyrų 35–39 metų amžiaus grupėse. Tarp onkologinėmis ligomis sergančių 15–29 metų vyrų pirmoje vietoje buvo sėklidės vėžys, kuris sudarė 21 % piktybinių ligų šioje amžiaus grupėje. Pagal TNM klasifikaciją Lietuvoje dažniausiai diagnozuojama pirmos stadijos sėklidžių vėžys (76,3 %), rečiau – antros (10,5 %) ir trečios (5,3 %) stadijos, o 7,9 % atvejų stadija lieka nenustatyta. Lietuvos vy-

rų, sergančių sėklidžių vėžiu, vienerių metų išgyvenamumas siekia 82,7 %, penkerių metų – 80,5 % [5].

Atlikus histologinius navikų tyrimus, germinacinių ląstelių navikai sudaro apie 98 % visų sėklidžių vėžio atvejų. Histologiškai sėklidžių germinacinių ląstelių navikai skirstomi į tris pagrindines grupes: seminomas, neseminomas ir spermatocitines seminomas. JAV seminomos sudaro apie 56 % germinacinių ląstelių navikų, o neseminomos, kurios apima embrionines karcinomas, teratomas, choriokarcinomas, trynio maišo navikus ir mišrių germinacinių ląstelių navikus, sudaro apie 43 %. Vidutinis vyrų, kuriems diagnozuojama seminoma, amžius yra 35–39 metai, neseminomos atveju vyrų amžius yra 10 metų jaunesnis – 25–29 metai. Trečias, rečiausias, germinacinių ląstelių sėklidžių vėžio tipas – spermatocitinė seminoma – sudaro tik 0,6 % visų vyrų germinacinių ląstelių navikų, ji dažniausiai diagnozuojama 50–54 metų vyrams [6]. Nedaugelę dalį (2 %) sėklidžių vėžio atvejų, kurie nėra germinacinių ląstelių navikai, sudaro stromos navikai, tokie kaip Sertolio ląstelių ir kiti reti histologiniai tipai. Tarptautinio tyrimo duomenimis [7], daugumoje šalių seminomų dažnis yra didesnis nei neseminomų, tačiau yra trys išimtys – Estija, Slovakija, Kosta Rikos Respublika, kuriose neseminomų dažnis viršija seminomų.

Svarbu pažymėti, kad sėklidžių vėžys yra vienas efektyviausiai gydomų solidinių navikų, 10 metų išgyvenamumas šio vėžio atveju yra daugiau nei 95 % [8]. Ne tik histologiniu požiūriu, bet ir dėl skirtingos prognozės bei taikomų gydymo algoritmų germinacinių ląstelių navikai dažniausiai išskiriami į seminomas ir neseminomas. Pacientų, sergančių seminoma (visos stadijos), pasveikimo tikimybė didesnė nei 90 %, o pacientų, kuriems nustatyta maža rizika, ir neseminomos išgyjimo tikimybė prilyginama 100 % [9]. Tyrimų rezultatai rodo, kad diagnozavus šį naviką jauname amžiuje ir pritaikius efektyvų gydymą (chemoterapija platinos preparatais), pacientų išgyvenamumas prailginamas keliais dešimtmečiais net ir esant vėlyvų stadijų vėžiui. Tačiau, nepaisant didelės išgyjimo nuo sėklidžių vėžio tikimybės, pacientai kenčia nuo ilgalaikio sergamumo. Ilgas sėklidžių vėžio gydymas gali sukelti antrinius piktybinius navikus, širdies ir kraujagyslių sistemos ligas, neurotoksinius, nefrotoksinius reiškinius, plaučių pažeidimus, hipogonadizmą, vaisingumo sutrikimus bei su tuo susijusias psichologines ir sociali-

nes problemas ar kognityvinius sutrikimus [10–12].

Pažangūs onkologijos tyrimai, tobulėjančios ankstyvos vėžio diagnostikos galimybės ir modernus gydymas nuo vėžio reikšmingai sumažina pacientų mirtingumą, tačiau kartu padidina ir tokių nepageidaujamų reiškinių kaip nevaisingumas dažnį. Skiriant gydymą nuo vėžio (chirurgija, radioterapija, citotoksinė chemoterapija), sukeliami laikini arba negrįžtami vaisingumo sutrikimai: vyrams sutrinka ejakuliacija ar erekcija, užslopinama spermatogenezė. Chirurginis gydymas taip pat turi tiesioginį poveikį paciento vaisingumui – pažeidžiama lytinių organų anatomija, atsiranda kraujotakos sutrikimų, dėl to vėliau pacientams sutrinka ar vyksta retrogradinė ejakuliacija. Dėl abipusės orchiektomijos (abiejų sėklidžių pašalinimo operacija) sergant sėklidžių vėžiu spermoje nėra tiek testosterono, tiek spermatozoidų ir tai lemia visišką vyro nevaisingumą. Po vienos orchiektomijos (vienos sėklidės pašalinimas) sumažėja spermatozoidų koncentracija spermoje, tačiau spermatogenezės sutrikimai dažniausiai yra grįžtami ir atsitaisto per pirmuosius metus po chirurginio gydymo, taip pat normalizuojasi ir folikulus stimuliuojančio hormono (FSH) lygis. Vyrams chemoterapija ir radioterapija pasižymi tiesioginiu gonotoksiniu poveikiu spermatozoidų kiekiui, judrumui, morfologijai ir deoksiribonukleorūgšties (DNR) vientisumui. Nustatyta, kad alkilinantieji preparatai sukelia didžiausią nevaisingumo riziką, dažniausiai dėl išsivystančios azospermijos (kai visiškai nerandama spermatozoidų spermoje). Kiti chemoterapiniai vaistai, pavyzdžiui, platinos junginiai, taip pat apie 50 % pacientų sukelia azospermiją. Modernus sėklidės germinacinių ląstelių vėžio adjuvantinis gydymas, naudojant mažiausiai du ciklus bleomicino, etopozido ir cisplatinos, smarkiai paveikia spermatozoidų chromatinio kokybę bei sutrikdo spermatogenezę 3–6 mėnesius; spermatogenezė normalizuojasi maždaug per 12 mėnesių baigus gydymą [13]. Tačiau šis laikas gali pailgėti priklausomai nuo gydymo būdo – ar buvo skirta radioterapija, ar daugiau nei du ciklai bleomicino, etopozido ir cisplatinos. Švitinimo metu ląstelės ciklo G2 fazėje susidaro chromatinio aberacijos, dėl to vystosi azospermija. Nevaisingumo išsivystymo tikimybė ir spermatogenezės pažeidimo laipsnis po sėklidės švitinimo priklauso nuo švitinimo dozės, sėklidės ekranavimo ir gydymo frakcionavimo (skirta viena dozė ar dauginiai ciklai).

Švitinimas mažomis dozėmis (0,1 Gy) gali sumažinti spermatozoidų kiekį, o 1,5–4 Gy dozėmis – sukelti visišką sterilumą. Pažymėtina, kad sėklidžių kanalėliuose esančios Leidigo ląstelės, kurios atsakingos už testosterono gamybą, yra mažiau jautrios radiacijai: sutrikimai nustatomi tik skiriant daugiau nei 20 Gy švitinimą berniukams iki brendimo ir daugiau nei 30 Gy subrendusiems vyrams. Tačiau nevaisingumo dažnis, sukeltas vėžio gydymo, yra įvairus ir priklauso nuo įvairių rizikos veiksnių: vėžio tipo, paciento amžiaus, susijusių ligų ar buvusio ankstesnio nevaisingumo ir jo gydymo, taip pat nuo chemoterapijos tipo ir dozės, radioterapijos vietos ir apimties ar adjuvantinės hormonų terapijos [14].

TYRIMO TIKSLAS

Apžvelgti jaunų vyrų, sergančių onkologinėmis ligomis, vaisingumo sutrikimus, vaisingumo išsaugojimo būdus ir galimybes bei patirtį pasaulyje ir Lietuvoje.

TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

Tyrimo dizainas

Išanalizuoti pacientai, kurie nuo 2015–2016 m. dėl sėklidžių vėžio buvo operuoti Nacionaliniame vėžio institute (NVI) ar 2016 m. dėl kitos onkohematologinės ligos gydėsi Vilniaus universiteto ligoninėje Santariškių klinikoje (VULSK). NVI pacientų vaisingumui išsaugoti buvo patvirtintas biomedicininis tyrimas „Onkologinių pacientų vaisingumo išsaugojimo programa“ (2014-07-08 gautas Vilniaus regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto leidimas atlikti tyrimą Nr. 158200-14-743-260), VULSK pacientų vaisingumo išsaugojimas buvo vykdomas pagal Vaisingumo technologijų poskyryje patvirtintas standartinės veiklos procedūras (VTP P).

Pacientų atranka

I NVI vykdomą „Onkologinių pacientų vaisingumo išsaugojimo programą“ (VIP programa) buvo kviečiami sėklidžių vėžio sergantys iki 35 metų amžiaus vyrai, kuriems operacijos metu buvo šalinama sėklidė. Pacientai pasirašydavo Asmens informavimo ir informuoto asmens sutikimo formas. Prieš operaciją jiems būdavo siūloma užšaldyti spermos mėginį, operacijos metu imamas sveikas sėklidės audinys spermatozoidų brandinimo *in vi-*

tro moksliniams tyrimams. I VULSK atvykę pacientai, kuriems diagnozuota onkohematologinė liga ir bus skiriamas agresyvus chemoterapinis gydymas, o pacientai planuoja ateityje susilaukti vaikų, buvo informuojami apie galimybę užšaldyti ir išsaugoti savo lytines ląsteles. Vertinti visų pacientų individualūs ir sveikatos duomenys (amžius, ligos diagnozė, stadija, kt.).

Spermos tyrimas

Visiems asmenims prieš užšaldant lytines ląsteles buvo atliekamas spermos tyrimas kiekybiniais ir kokybiniais rodikliais įvertinti. Tyrimas atliekamas laikantis Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) rekomendacijų. Vadovaujantis 2010 metų PSO rekomendacijomis, normali spermatozoidų koncentracija yra 15 milijonų/ml ar daugiau, progresyvus pirmynėgis judrumas 32 % ar daugiau bei 4 % ar daugiau normalios morfologijos spermatozoidų [15]. Kiekvienam pacientui buvo vertinamas spermos mėginio tūris (mililitrais), spermatozoidų koncentracija mėginyje (mln./ml), vertintas judrumas remiantis PSO A, B, C, D judrumo kategorijomis pagal spermatozoidų judėjimo greitį. A kategorijos spermatozoidai juda greitai tiesia linija (25 m/s greičiu), B – juda į priekį, tačiau kreiva (ne tiesia) linija (5–24 m/s), A ir B spermatozoidų judėjimas vadinamas progresyviu. C – neprogresyvus judėjimas (juda tik uodegėlės arba <5 m/s), D – visiškai nejuda. Kiekviena kategorija buvo išreikiama jai priklausančių spermatozoidų koncentracija (mln./ml) ir procentine išraiška.

Lytinių ląstelių šaldymas

Lytinių ląstelių šaldymo procedūra buvo atliekama II A klasės biologinės saugos kabinete ant šalto (kambario temperatūros) paviršiaus. Prieš pradedant spermos šaldymo procedūrą, buvo sutikrinama, ar atlikti kraujo (serologiniai) tyrimai dėl hepatito B (HBV), hepatito C (HCV), žmogaus imunodeficit viruso (ŽIV) ir *Treponema pallidum* infekcijų. Ant kriomėgintuvėlių ir plastmasinių imaučių (*CryoBioSystem*, Prancūzija) buvo užrašoma asmens vardas, pavardė, gimimo data (asmens kodas), šaldymo data. Spermos šaldymo terpė (*Sperm Freeze Kit*, *FertiPro*, Belgija) buvo išimama iš šaldytuvo ir, naudojant 3 ml sterilią plastikinę Pastero pipetę, paimamas reikiamas tūris iš buteliuko bei perkeliamas į sterili indelį, palaukiama, kol terpė ir spermos mėginys bus kambario temperatūros (apie 15 min.). Suvienodėjus tempera-

tūroms, terpė atsargiai, naudojant 3 ml sterilią plastikinę Pastero pipetę, lašais lašinama į indelį su sperma, nuolat sukant jį rankose. Sulašinus visą šaldymo terpės tūrį, indelis paliekamas kambario temperatūroje 10–20 min., pasukant indelį rankose ir pamaisant visą turinį, kad geriau pasiskirstytų šaldymo tirpalas (krioprotektorius). Tuomet visas tūris išpilstomas į 2 ml krioindelius, krioindeliai sandariai užlydomi, sudedami į metalinius laikiklius ir įstatomi į azoto pripildytą diuaro indą 15–30 min. virš skysto azoto (N₂) garų. Praėjus nurodytam laikui kriomėgintuvėliai perkeliama į skysto N₂ diuarus ilgalaikiam saugojimui. Kompiuterinėje duomenų bazėje buvo pažymimi paciento asmeniniai duomenys, duomenys apie atliktą procedūrą ir mėginio saugojimo vietą. Visi duomenys įtraukti į Spermos šaldymo registrą.

Sėklidės audinio šaldymas

Sėklidės audinys buvo šaldomas pagal lėto šaldymo protokolą [16]. Pirmiausia buvo ruošiami šaldymo tirpalai, kuriuose įdėta 5 % žmogaus serumo albumino (ŽSA) ir 10 % dimetilsulfoksido (DMSO) M199 kultūros terpėje. Atskiri tirpalai buvo paruošti dviem etapais nuoseklaus skiedimo būdu. Tiesiai iš operacinės transportiniame tirpale ir leduose atgabentas sėklidės audinys nedelsiant susmulkinamas į maždaug 0,5 cm² dydžio gabalėlius. Audinio gabalėliai dedami į M199 terpę, papildytą 5 % ŽSA, kur pirmiausia buvo laikomi su 5 % DMSO 15 minučių ir tuomet perkeliama į terpę su 10 % DMSO 15 minučių. Abi inkubacijos buvo atliekamos žemoje temperatūroje leduose (2–4 °C). Užbaigus šaldymo tirpalo išotinimo etapą, audinio gabalėliai panardinami į galutinį šaldymo tirpalą ir paskirstomi į kriomėgintuvėlius (*CryoBioSystem*, Prancūzija). Užsandarinti kriomėgintuvėliai su paciento identifikaciniais duomenimis buvo dedami į Mr. Froster šaldymo konteinerį ir 24 valandoms dedami į –80 °C šaldiklį. Po 24 val. krioindeliai perkeliama į skysto azoto (–196 °C) saugyklos ir paliekami ilgalaikiam saugojimui iki brandinimo eksperimento. Visi duomenys registruojami kompiuterinėje duomenų bazėje.

Statistinė analizė

Duomenys analizuoti naudojantis *Microsoft Excel 2010* bei *SPSS 22.0* programomis. Skaičiuoti tirtųjų skaitmeninių rodiklių vidurkiai, standartiniai nuokrypiai, o skirtumų tarp grupių analizė atlikta taikant T testą. Statistinio patikimumo lygmuo $p < 0,05$.

TYRIMO REZULTATAI

Tirtųjų pacientų charakteristikos

NVI pacientų analizė. NVI dalyvauti VIP programoje buvo pakviesta 15 jauno amžiaus vyrų, kuriems nuo 2014 m. gruodžio iki 2016 m. gruodžio diagnozuotas sėklidžių vėžys ir planinės operacijos metu buvo šalinama viena sėklidė. Pacientams buvo pasiūlyta užšaldyti sėklidės audinio ir spermos jų vaisingumui išsaugoti. 2014 m. įtraukti du pacientai (13,33 %), 2015 m. – 7 (46,67 %) ir 2016 m. – 6 (40 %).

Iš 15 į VIP programą įtrauktų pacientų jauniausias buvo 17 metų, vyriausias – 35 metų (amžiaus vidurkis $27,20 \pm 5,62$ metų). Keturiolikai pacientų buvo diagnozuotas piktybinis sėklidžių navikas, iš jų 4-iems (28,57 %) navikas buvo dešinėje sėklidėje, 10-iai nustatyta kairės sėklidės karcinoma (71,43 %). Vertinant pagal TNM klasifikaciją, 7 pacientams nustatytas neišplitęs navikas sėklidėje ir (ar) sėklidės prielipe (T1): iš jų 4-iems nerasta naviko išplitimo į sritinius limfmazgius ir metastazių (T1N0M0), o kitiems 3-ims pacientams plitimas į limfmazgius ir tolimosios metastazės nepatvirtinta (T1NXMX). Šešiems pacientams navikas buvo įaugęs į sėklidę supančias kraujagysles ir limfagysles (T2): 4-iems nenustatyta nei išplitimo į sritinius limfmazgius, nei metastazių (T2N0M0), 2-iems išplitimas nepatvirtintas (T2NXMX). Iš visų 15 tyrimą įtrauktų asmenų nebuvo pacientų, sergančių T3 ir T4 stadijos vėžiu, t. y. naviko išplitimo į sėklinį lataką ar kapšelių nekonstatuota. Vienam (jauniausiam pacientui) vėžio stadija nepatikslinkta, nes duomenų apie TNM klasifikaciją gauti nepavyko (pacientas spermos šaldymui buvo atvykęs iš kitos gydymo įstaigos).

VULSK 2016 metais (nuo kovo iki gruodžio mėnesio) sperma buvo šaldyta 20 pacientų. Jauniausias buvo 18 metų, vyriausias – 33 metų (amžiaus vidurkis $23,5 \pm 4,4$ metai). Septyniems pacientams (35 %) diagnozuota limfoma: vienam ligoniui – IV B stadijos Berkito limfoma, šešiems – Hodžkino limfoma (I B, II A, du III, IV B ir IV A stadijų) ir penkiems nustatytas nodulinės sklerozės variantas. Keturiems pacientams (20 %) diagnozuota leukemija: trims – ūminė T limfoblastinė ir vienam – lėtinė mieloidinė leukemija (limfoblastinė krizė). Trims pacientams (15 %) diagnozuotas germinacinis navikas: vienam tarpuplaučio mišrus (trynio maišo) ir dviem kairės

Lentelė. NVI ir VULSK pacientų charakteristikos
Table. NVI and VULSK patients' diagnoses and average age

Ligininė	Diagnozė (procentai nuo visų tirtų pacientų)	Pacientų amžiaus vidurkis (metai)
NVI	Sėklidės vėžys (40 %)	27,9
	Nežinoma (2,9 %)	17
VULSK	Limfoma (20 %)	22,1
	Leukemija (11,4 %)	20,6
	Germinacinis navikas (8,6 %)	21,3
	Neuroendokrininė karcinoma (2,9 %)	27
	Mielominė liga (2,9 %)	33
	Nežinoma (11,4 %)	27

sėklidės (pT3N3M1a ir pT1NXM1) germinaciniai navikai. Dviem (10 %) pacientams buvo diagnozuota mielominė liga (IgG lambda variantas, I stadija) ir neuroendokrininė karcinoma (cTXNXM1, IV stadija). Keturiems pacientams (20 %) diagnozė nepatikslinkta (pacientai atvykę iš kitų gydymo įstaigų tik spermos šaldymui).

Apibendrinant teigtina, kad visiems NVI pacientams, šaldžiusiems spermą, buvo diagnozuoti sėklidžių navikai, VULSK dažniausiai vaisingumo išsaugojimas buvo atliktas pacientams, sergantiems limfoma ir leukemija. Abiejų klinikų pacientai buvo jauno amžiaus, tačiau NVI pacientai buvo statistiškai reikšmingai vyresni nei VULSK – vidutiniškai 27,20 ir 23,5 metų atitinkamai ($p < 0,05$) (lentelė).

Spermos tyrimų analizė

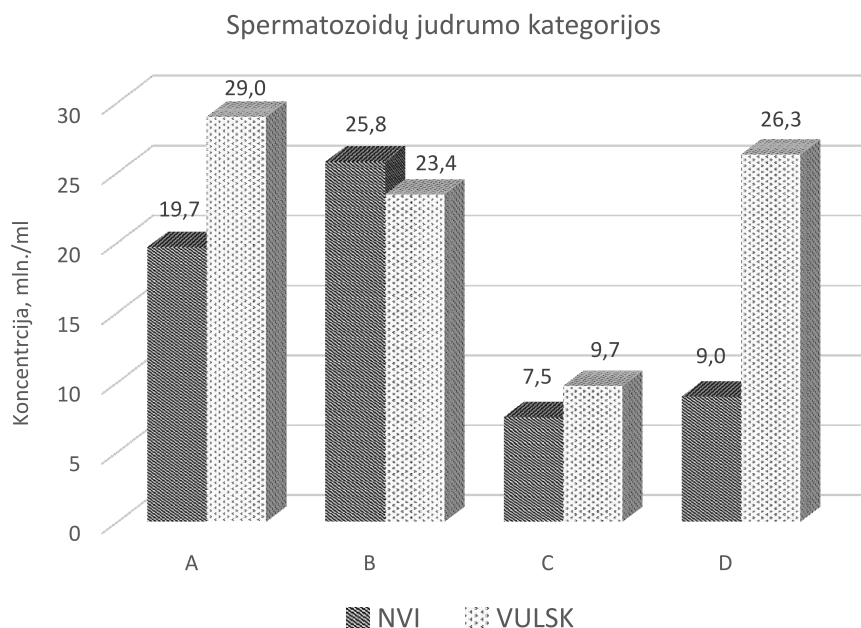
Visiems pacientams NVI buvo paimti spermos mėginiai ištyrimui ir užšaldymui. Tirtųjų pacientų spermos tūris buvo nuo 1 iki 6 ml (vidurkis $2,87 \pm 1,43$ ml). PSO normalaus vieno mėginio spermos kiekio kriterijus yra 1,5 ml ir ši kriterijų atitiko 13 iš 15 tirtų pacientų (86,67 %). Dvių pacientų spermos mėginio tūris buvo po 1 ml: vienas pacientas buvo jauniausias (17 metų), kurio diagnozė nežinoma, tačiau nustatyta normospermija, kitas – 35 metų vyras, kurio spermatozogenezė buvo pažeista sėklidės vėžio – nustatyta azospermija. Spermatozoidų koncentracija svyravo nuo 0 iki 120 mln./ml (vidurkis $51,07 \pm 46,93$ mln./ml). Dešimčiai pacientų nustatyta normospermija (66,67 %), 3-ims – oligospermija (20 %) ir dviem – azospermija (13,33 %).

Vertinant spermatozoidų judėjimą pagal PSO judrumo kategorijas, tirtiesiems pacientams A kategorijos spermatozoidų vidutiniškai buvo $19,67 \pm 30,62$ mln./ml ($18,82 \pm 26,46$ %), B – $25,78 \pm 25,92$ mln./ml ($42,32 \pm 25,37$ %), C –

$7,51 \pm 5,70$ mln./ml ($16,63 \pm 10,37$ %), D – $8,98 \pm 4,98$ mln./ml ($22,23 \pm 15,56$ %). NVI onkologinių pacientų spermatozoidų didžiausią dalį sudarė judantys vidutiniu greičiu (1 pav.).

VULSK visiems jauno amžiaus pacientams prieš vėžio gydymą buvo siūloma užšaldyti spermą. Prieš šaldant taip pat buvo imamas mėginys ištyrimui. Šių pacientų spermos kiekis buvo nuo 1 iki 8 ml (vidurkis $3,55 \pm 1,74$ ml), PSO normalaus spermos kiekio kriterijų (1,5 ml) atitiko visi, išskyrus vieną pacientą, sergantį IV B stadijos Hodžkino limfoma. Spermatozoidų koncentracija buvo nuo 10 iki 158 mln./ml (vidutiniškai $88,4 \pm 45,58$ mln./ml), tačiau dviem pacientams (sergančiam sėklidės germinaciniu naviku ir lėtine mieloidine leukemija) spermoje buvo rasti tik pavieniai spermatozoidai. 12-ai pacientų (60 %) nustatyta normospermija, 5-iems (25 %) – astenospermija, 1-am (5 %) – oligostenospermija, 2-iems (10 %) – didelio laipsnio oligostenospermija (pavieniai spermatozoidai spermoje). Įvertinus šių pacientų spermatozoidų judrumą pagal PSO A, B, C, D judrumo kategorijas, A kategorijai vidutiniškai priklausė $28,99 \pm 25,92$ mln./ml ($29,52 \pm 20,77$ %) spermatozoidų, B kategorijai – $23,44 \pm 17,79$ mln./ml ($26,03 \pm 12,49$ %), C kategorijai – $9,73 \pm 4,80$ mln./ml ($11,92 \pm 4,56$ %) ir D kategorijai – $26,28 \pm 16,29$ mln./ml ($32,79 \pm 13,91$ %). Taigi, VULSK pacientų didžiausią dalį spermatozoidų sudarė D kategorijos, t. y. visiškai nejudantys, spermatozoidai (1 pav.).

NVI pacientai sirgo sėklidžių vėžiu, o VULSK – hematologinėmis piktybinėmis ligomis, o tai, tikėtina, lėmė spermos tyrimų rodiklių skirtumus. Vidutinis spermos kiekis, paimtas tyrimams iš vieno paciento, NVI ir VULSK ligonių statistiškai nesiskyrė – atitinkamai 2,87 ml ir 3,55 ml ($p > 0,05$). Tačiau spermatozoidų koncentracija hematologinių ligonių mė-



1 pav. NVI ir VULSK pacientų vidutinis spermatozoidų koncentracijos pasiskirstymas pagal PSO A, B, C ir D judrumo kategorijas

Fig. 1. NVI and VULSK patients' average sperm concentration distribution according to PSO A, B, C, D mobility categories

giniuose buvo beveik 1,7 karto didesnė negu NVI pacientų: 88,44 mln./ml ir 51,07 mln./ml ($p < 0,05$).

Lyginant spermatozoidų judrumo kategorijas, vidutinė greitai judančių spermatozoidų koncentracija statistiškai reikšmingai nesiskyrė (28,99 mln./ml ir 19,67 mln./ml; $p > 0,05$) NVI ir VULSK grupėse ($p > 0,05$). Taip pat nerasta reikšmingų vidutiniškai (5–24 m/s) judančių (B kategorijos) spermatozoidų ir lėtai (< 5 m/s) ar neprogresuojančiai judančių (C kategorijos) spermatozoidų koncentracijų skirtumų tarp VULSK ir NVI ligonių ($p > 0,05$). Tačiau, hematologiniai pacientai turėjo didesnę nejudančių spermatozoidų vidutinę koncentraciją negu NVI pacientai (26,28 mln./ml ir 8,98 mln./ml; $p < 0,05$).

VULSK pacientų grupėje spermatozoidų koncentracija buvo statistiškai reikšmingai didesnė negu NVI pacientų, tačiau VULSK pacientams dažniau buvo nustatyti D kategorijos judrumo spermatozoidai. Sėklidės vėžiu sergančių pacientų spermatogenezės pažeidimas pasireiškė spermatozoidų koncentracijos mažėjimu, o hematologinių pacientų – judrumo sutrikimais.

Spermos mėginių šaldymo analizė

NVI pacientams, kurių spermoje buvo rasta spermatozoidų (spermogramos tyrimų išvada buvo normospermija arba oligospermija), spermos mėginiai

buvo užšaldyti ir saugomi NVI Bio-banke. Apdorotas krioprotektoriais spermos éminys buvo išdalintas į atskirus mėginius šaldymui, pacientams buvo paruošta nuo 2 iki 6 kriomėgintuvėlių šaldymui (vidutiniškai $3,69 \pm 1,31$). Šaldomas spermos tūris vienam pacientui buvo nuo 1,6 iki 5,6 ml (vidutiniškai $5,08 \pm 2,36$ ml). Viename mėgintuvėlyje buvo nuo 0,8 iki 1,8 ml spermos (vidutiniškai $1,29 \pm 0,30$ ml).

Dvidešimties VULSK pacientų sperma buvo užšaldyta vaisingumui išsaugoti. Šaldytų mėginių skaičius vienam pacientui buvo nuo 2 iki 8 (vidutiniškai $4,70 \pm 1,49$). Tačiau svarbu pažymėti, kad dar 2 pacientams nepavyko duoti spermos mėginio masturbacijos metu, o 2 pacientams sperma šaldyta nebuvo, nes jiems nustatyta azospermija (duomenys į analizę neįtraukti).

Piktybinėmis kraujo ligomis ir sėklidžių naviku sergančių pacientų dalis spermos rodiklių buvo skirtinga, taip pat statistiškai skyrėsi ir užšaldytas vidutinis spermos mėginių kiekis abiejose grupėse: 4,7 VULSK ir 3,7 NVI ligonių mėginiai ($p < 0,05$).

Sėklidės audinio šaldymo analizė

NVI planinės operacijos metu 9-iems pacientams buvo paimta sėklidės audinio užšaldymui eksperimentiniais tikslais, siekiant ištobulinti spermatozoidų regeneracijos technologijas pacientų vaisingumui atkurti ir suteikti

pacientams galimybę susilaukti biologinių palikuonių ateityje. Vienam pacientui buvo užšaldyta nuo 3 iki 23 sėklidės audinio mėginių (vidutiniškai $11,6 \pm 6,2$). Sėklidės audinys buvo šaldomas nepriklausomai nuo spermos tyrimų rezultatų (šaldytas ir pacientams su azospermija).

VULSK moksliniais tikslais sėklidės audinių šaldyta nebuvo.

REZULTATŲ APTARIMAS IR DISKUSIJA

Lytinių ląstelių bankai Lietuvoje ir užsienyje

Dėl vėžio gydymo išsivystę vaisingumo sutrikimai ar visiškai nevaisingumas dažniausiai buvusiems onkologiniams pacientams sukelia didžiulį psichologinį stresą. Todėl jau vėžio diagnozės metu daugelis pacientų susirūpinę ne tik kaip pasveikti nuo ligos, bet ir kaip išsaugoti vaisingumą bei reprodukcinę funkciją. Tačiau daugelis pacientų dar nežino ar net nesuimašo apie vėlyvas vėžio gydymo pasekmes jų reprodukcinę funkciją. Todėl apie vaisingumo išsaugojimo galimybes pacientus pirmiausia turi informuoti juos gydantys gydytojai. Be to, pasirinktas vaisingumo išsaugojimo būdas gali lemti ir gydymo taktikos pasirinkimą ar atvirkščiai – dažnai tokiais atvejais sprendžiama, ar gali būti atidėtas vėžio gydymas dėl pacientams taikomų vaisingumo išsaugojimo metodų.

Vyrų nevaisingumas dėl vėžio gydymo gali būti laikinas ar nuolatinis, taip pat gali svyruoti nuo lengvo iki sunkaus. Kadangi yra sudėtinga, o kartais net neįmanoma nuspėti tikslaus vėžio terapijos poveikio individualaus vyro gebėjimui turėti biologinių vaikų, todėl didelis dėmesys vaisingumo išsaugojimui turėtų būti užtikrintas iš karto diagnozavus vėžį. Vėžio diagnozės nustatymo metu daugiau kaip pusė pacientų ir net daugiau nei du trečdaliai jų, kurie tuo metu neturi vaikų, ateityje nori išlikti vaisingi. Tačiau, kaip rodo statistiniai duomenys, tik mažiau nei ketvirtadalis visų sergančių vėžiu asmenų pasinaudoja spermos užšaldymo ir ilgalaikio išsaugojimo galimybe, ir pagrindinė priežastis – informacijos stoka. Kitos priežastys, kodėl pacientai gali nuspręsti nešaldyti spermos prieš gydymą, apima pacientų ir sveikatos priežiūros specialistų aplaidumą, jaučiamą diskomfortą duodant spermos mėginį (masturbacija), dažniausiai mokamą šaldymo ir saugojimo kainą, skubų gy-

dymo pradžios poreikį ar spermos šaldymo paslaugų prieinamumą trūkumą [17]. Įvairios tarptautinės draugijos [18, 19] rekomenduoja, kad gydytojais kaip įmanoma anksčiau supažindintų reprodukcinio amžiaus pacientus su jų nevaisingumo rizika dėl ligos ir (ar) gydymo, išsiaiškintų pacientų lūkesčius turėti vaikų po vėžio gydymo ir išsamiai juos informuotų apie vaisingumo išsaugojimo galimybes tiek jų, tiek kitose įstaigose. Pacientai turėtų atlikti spermos šaldymą prieš pradėdami bet koki vėžio gydymą, kuris paveikia reprodukcinę sistemą. Tačiau reikia pažymėti, kad jei chemoterapija ar spindulinis gydymas jau yra pradėtas, spermos šaldymas vis dar yra galimas ir gydymo metu, kol pacientui dar neišsivysčiusi azoospermija [20].

Didelės trukmės moksliniais tyrimais įrodyta, kad biologinių mėginių ilgalaikis saugojimas lytinių ląstelių bankuose yra pasiekiamas apdorojant juos įvairiais krioprotektoriais (konservuojančiomis medžiagomis), užšaldant ir saugant juos ypač žemoje temperatūroje (skystas azotas ar garų fazė). Žemos temperatūros sąlygomis dramatiškai sumažėja gyvų ląstelių biologinis metabolizmas, todėl sustoja fermentinės ir cheminės reakcijos, o tai leidžia ilgą laiką saugoti ląsteles ir audinius. Ši strategija yra viena svarbiausių vykdant įvairius mokslinius tyrimus ar taikant daugelį modernių gydymo būdų klinikinėje praktikoje, įskaitant regeneracinę ir reprodukcinę mediciną. Ši sparčiai populiarėjanti sritis apima lytinių ląstelių (spermatozoidų ir kiaušialąsčių), embrionų ar reprodukcinę audinių (kiaušidės ir sėklidės) šaldymą ir ilgalaikį išsaugojimą.

Spermos surinkimas ir užšaldymas šiuo metu yra vienintelis patvirtintas klinikinis metodas, užtikrinantis ateities vaisingumą berniukams lytinio brendimo metu ir suaugusiems vyrams [21]. Spermos šaldymas ir saugojimas turėtų būti siūlomas kaip pirmos eilės pasirinkimas tiems jauniems pacientams, kurie gali duoti spermos mėginį, nes nuo to periodo jau galima išauginti naują gyvybę po pagalbinio apvaisinimo procedūrų. Siūloma saugoti spermą net ir tada, kai yra aptinkami tik pavieniai spermatozoidai, nes vėliau, panaudojus sudėtingas pagalbinio apvaisinimo technologijas (intracitoplazminę spermatozoido injekciją, ICSI), taip pat galima susilaukti savo genetinių palikuonių. Žmogaus spermatozoidų šaldymas ir ilgalaikis saugojimas buvo pradėtas 1960 metais ir dabar yra vienas iš dažniausiai naudojamų metodų repro-

dukcinės medicinos laboratorijose visame pasaulyje.

Nors spermos užšaldymas yra efektyvus vaisingumo išsaugojimo metodas, bet nėra visuotinai siūlomas vyrams, kuriems bus taikoma gonadotoksinė terapija JAV. Vieno tyrimo metu buvo nustatyta, kad nors 91 % JAV onkologų mano, kad spermos saugojimas turėtų būti siūlomas visiems vėžiu sergantiems vyrams, tačiau net 48 % gydytojų pripažįsta niekada ne diskutavę ar minėję apie tai net 25 % tinkamo amžiaus pacientų [22]. Tačiau galima pasidžiaugti, kad situacija nuolat gerėja: vykdant vaisingumo išsaugojimo konsultacijų programas, tokių siūlomų paslaugų skaičius 18–40 metų vyrams, sergantiems vėžiu, padidėjo nuo 10 % 2002 metais iki 40 % 2010 metais [23]. Atliktas retrospektyvusis tyrimas [24], kurio metu buvo įvertinta 1118 atvejų, kai buvo užšaldyta sperma Vašingtono universiteto spermos banke nuo 1991 iki 2010 metų. Dažniausiai vyrams buvo nustatyta sėklidžių vėžys (32 %), limfoma (25 %), leukemija (11 %) ir prostatos vėžys (9 %). Iš visų vėžiu sergančių pacientų, kurie kreipėsi į spermos banką, 89 % pacientų sperma buvo sėkmingai išsaugota, o 11 % vyrų mėginiai nebuvo priimti į banką: 2 % dėl prastos spermos kokybės, 3 % negalėjo duoti mėginio masturbacijos būdu, 5 % sperma nebuvo šaldyta jau dėl išsivysčiusios azoospermijos. Vidutinis pacientų, šaldžiusių spermą, amžius buvo $29,8 \pm 10,5$ metai, o tų, kurie negalėjo duoti spermos mėginio – $20,8 \pm 4,9$ metai. Vėžiu sergančių pacientų vidutinis ėminių skaičius buvo 1 (svyravo nuo 1 iki 18) visose vėžio atvejų grupėse. Prieš šaldymą vidutinė spermatozoidų koncentracija buvo $31,6 \times 10^6/\text{ml}$ ir judrumas 43 %. Po atšildymo spermatozoidų koncentracija buvo $15,7 \times 10^6/\text{ml}$ ir judrumas 19 %. Nors nebuvo nustatyta spermatozoidų koncentracijos ar judrumo pokyčio skirtingų prieš atšildymą ir po jo tarp skirtingų pacientų grupių, tačiau labai svarbu perspėti asmenis, kad atšildžius spermos kokybė bus blogesnė nei prieš užšaldant. Nors ankstesniais tyrimais nustatyta, kad mažiausia vidutinė spermatozoidų koncentracija ir judrumas buvo sėklidžių vėžiu sergančių asmenų [25, 26], tačiau naujausių tyrimų rezultatai parodė [24], kad blogiausi rodikliai buvo tų, kurie sirgo leukemija. Per 20 stebėjimo metų savo mėginį panaudojo tik 9,5 % pacientų, tačiau net 48 % pageidavo ir tęsė spermos mėginių saugojimą.

Jungtinės Karalystės Londono nacionaliniame spermos banke nuo 1976 iki 2013 metų 4362 vyrai, sergantys

vėžiu, sėkmingai užšaldė spermą iki gydymo [27]. Spermos tinkamumas šaldyti buvo vertintas pagal 2010 metų ar ankstesnes PSO rekomendacijas. Vidutinis pacientų amžius iki 1990 metų buvo 26 metai, vėliau (nuo 2005 metų) spermą šaldė jau ir vyresnio amžiaus vyrai, amžiaus vidurkis padidėjo iki vidutinio 32 metų amžiaus. Įdomu pažymėti, kad vyriausias pacientas, užšaldęs spermą, buvo net 73 metų, o keli jauniausi pacientai buvo vos 13 metų amžiaus. Nuo 1976 iki 2009 metų pabaigos 3062 vėžiu sergantys pacientai užšaldė spermą, tačiau tik 6 % jų panaudojo savo mėginius pagalbiniam apvaisinimui. Dauguma pacientų, panaudoję savo saugomus mėginius, tai padarė per penkerius metus nuo spermos užšaldymo. Ilgiausias laiko tarpas nuo užšaldymo iki panaudojimo buvo 17 metų – mėginys buvo paimtas iš 24 metų vyro 1986-aisiais. Iš 3062 vėžiu sergančių pacientų 45 % nebuvo pažymėta tiksli vėžio diagnozė, likusiems dažniausiai buvo diagnozuotas sėklidžių vėžys. 10 % vėžiu sergančių pacientų, kuriems jau šaldymo metu buvo nustatyta azoospermija, buvo jaunesni nei tie, kurių sperma buvo užšaldyta. Oligospermijos (sumažėjusi spermatozoidų koncentracija) dažnis buvo didžiausias tų, kurie sirgo sėklidės vėžiu (40 %), kitiems buvo diagnozuotos leukemijos (33 %) ar kitų lokalizacijų navikai (18–29 %). Taip pat svarbu pažymėti, kad net 73 % atvejų, kai panaudota atšildyta sperma, buvo pritaikyta sudėtinga ICSI pagalbinio apvaisinimo procedūra.

Italijoje atliktas lytinių ląstelių banko 16 metų veiklos (nuo 1999 iki 2015) retrospektyvusis tyrimas [28], kurio metu buvo įvertinti jaunuolių, kurie sirgo įvairių tipų vėžiu ir kreipėsi į Bari universitetinės ligoninės spermos banką, spermos rodikliai prieš užšaldymą, spermos gyvybingumas po atšildymo ir klinikiniai pagalbinio apvaisinimo rezultatai, panaudojus šaldytus spermos mėginius. Iš 778 vyrų, kurie kreipėsi į lytinių ląstelių banką dėl vaisingumo išsaugojimo, 92,67 % sperma buvo sėkmingai užšaldyta ir išsaugota. Vidutinis pacientų amžius spermos užšaldymo metu buvo $29,23 \pm 7,95$ metai; 5,27 % pacientų buvo 13–17 metų amžiaus, 50,84 % – 18–30 metų, 30,22 % – 31–40 metų ir 7,52 % – vyresni kaip 40 metų. Jauniausiems pacientams buvo diagnozuota Hodžkino limfoma ($25,88 \pm 7,29$). Dažniausiai pacientams buvo diagnozuota sėklidžių seminoma (27,18 %), Hodžkino limfoma (24 %), mišrus sėklidžių navikas (14,98 %) ir embrioninių ląstelių

vėžys (12,34 %). Pacientų, sergančių mišriu sėklidžių vėžiu, surinktos spermos kiekis buvo reikšmingai didesnis nei sergančių kitų tipų vėžiu. Tačiau, kaip ir kitų tyrimų duomenimis, tik 19 pacientų mėginiai (2,64 %) buvo panaudoti pagalbiniam apvaisinimui (angl. *in vitro* fertilization, IVF), iš viso buvo atlikta 20 IVF ciklų. Šešioliką iš 20 ciklų (80 %) baigėsi embrionų perkėlimu. Mažesnis apvaisinimo dažnis buvo pacientų, kuriems diagnozuotas sėklidžių vėžys ar limfoma (35,42 % ir 50 %), palyginti su kitais navikais (71,43 %). Nėštumo dažnis po IVF buvo 37,5 % sėklidžių vėžio ir 33,3 % limfomos atvejais, tačiau nebuvo gauta nė vieno nėštumo kitų lokalizacijų vėžio atvejais. Po pagalbinio apvaisinimo panaudojus užšaldytą ir atšildytą spermą, gimė 7 vaikai, kuriems nebuvo nustatyta jokių įgimtų anomalijų.

JAV bei Italijoje tarp pacientų, užšaldžiusių spermą, didžiausią dalį sudarė sergantys sėklidžių vėžiu, antroje vietoje – Hodžkino limfoma. Mūsų tyrimo duomenys tokie patys: iš visų tirtų pacientų (NVI ir VULSK) daugiausia buvo sergančių sėklidžių vėžiu (40 %) bei Hodžkino limfoma (18,92 %). Lietuvoje nuo 2014 metų jauniems iki 35 metų vyrams, sergantiems sėklidės vėžiu, nuo 2016 metų – ir kitomis onkologinėmis ligomis, buvo siūloma užšaldyti spermą vaisingumui išsaugoti. Lyginant su JAV, JK ir Italija, Lietuvoje pacientai buvo jaunesni ($25,09 \pm 5,22$ metai), o didžiausias vidutinis pacientų amžius buvo Jungtinėje Karalystėje (32 metai). Nors mūsų pacientų pasiskirstymas pagal diagnozę buvo panašus kaip JAV, tačiau Lietuvoje pacientų vidutinė spermos koncentracija prieš užšal-

dymą buvo daugiau nei 2 kartus didesnė negu JAV: 71,4 mln./ml lyginant su 31,6 mln./ml. Taip pat vidutinis užšaldytų mėginių skaičius Lietuvoje buvo dvigubai didesnis: 1–2 mėginiai JAV ir 4,2 Lietuvoje. Tai galima paaiškinti tuo, kad ir NVI, ir VULSK pacientų prašoma spermos mėginį šaldymui duoti per kelis kartus.

Lietuvoje 2014 m. įtraukti 2 pacientai (5,71 %), 2015 m. – 7 (20 %) ir 2016 m. – 26 (74,29 %). Įdiegus nemokamą procedūrą ir VULSK 2016 m., abiejose įstaigose (ir NVI, ir VULSK) spermą šaldė net 33 pacientai (94,29 % tinkamų dalyvauti programoje). Taigi, nuo 2014 metų pradėjus siūlyti galimybes išsaugoti vaisingumą, pacientų susidomėjimas ir procedūrų skaičius kasmet didėjo.

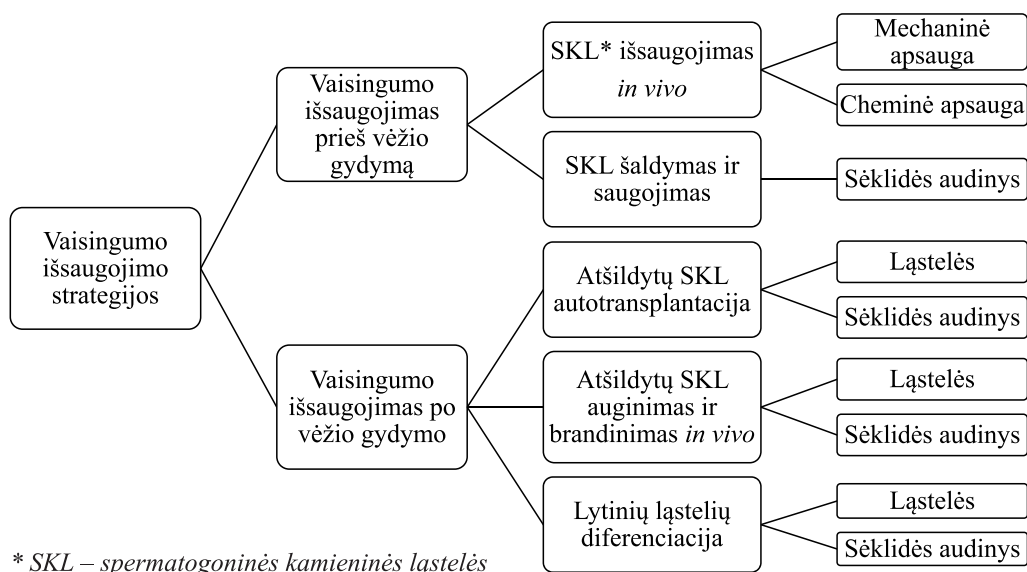
Tačiau kol kas palyginti spermos atšildymo ir panaudojimo pagalbinio apvaisinimo tikslu rezultatų su kitomis šalimis negalėjome, nes spermos šaldymas valstybinėse įstaigose atliekamas tik keletą metų. Dėl šios priežasties nė vienas iš mūsų pacientų spermą dar nebuvo atšildyta ir panaudota pagalbiniam apvaisinimui. Todėl reikalingas tolesnis duomenų kaupimas ir ilgametis pacientų stebėjimas, siekiant įvertinti vėlyvuosius onkologinių pacientų vaisingumo išsaugojimo rezultatus ir prognozuoti baigtis.

Sėklidės audinių šaldymo ir regeneracijos perspektyvos

Naujausios regeneracinių ir atkuriamųjų reprodukcinių technologijų galimybės naudojant užšaldytą ir atšildytą sėklidės audinį ar sėklidės ląstelių suspensiją buvo įrodytos atliekant tyrimus su gyvūnais. Tačiau jau yra su-

kurti ir efektyvūs žmogaus sėklidės audinio šaldymo protokolai, kurie šiuo metu jau taikomi ir klinikinėje praktikoje. Sėklidės ląstelių suspensijos po atšildymo ir vitrifikacijos yra $55,6 \pm 23,8$ % [29]. Deja, vis dar trūksta aiškių įrodymų apie šių technologijų veiksmingumą žmogaus vaisingumui atkurti. Be to, vis dar nepakanka duomenų apie technologijos saugumą palikuonių kartoms, gimusioms iš užšaldyto ir paskui atšildyto sėklidės audinio ar sėklidės ląstelių suspensijos. Taigi, sėklidės audinys mūsų tirtiems pacientams kol kas imamas tik eksperimentiniais tikslais.

Nors sėklidės audinio krioprezervacija (angl. *testicular tissue cryopreservation*, TTCP) yra laikoma eksperimentiniu metodu, bet tai yra populiarėjanti vaisingumo išsaugojimo strategija prieš gonadotoksinę vėžio terapiją pacientams, kurie gali tapti nevaisingi po sėkmingo onkologinės ligos gydymo. TTCP galėtų būti taikoma berniukams iki lytinio brendimo, kurie dar negali gaminti spermos ir tuo labiau jos išgauti masturbacijos būdu. Manoma, kad visiems berniukams iki brendimo, kuriems bus taikomas gonadotoksinis vėžio gydymas, turėtų būti pasiūlyta TTCP. Kitose klinikose siūloma sėklidės audinio fragmentus šaldyti ir vyresniems didelės rizikos onkologiniams ligoniams [30]. Įrodyta, kad užšaldant sėklidės audinį išlaikomas sėklinių kanalėlių vientisumas, taip pat ir dalies spermatogonijų, Leidigo ir Sertolio ląstelių funkcijos *in vitro* ir *in vivo* [31, 32]. Užšaldytame sėklidės audinyje yra spermatogoninių kamieninių ląstelių, kurios teoriškai galėtų būti reimplantuotos į sėklides, tokiu būdu atkurta spermatoge-



2 pav. Berniukų ir jaunų vyrų vaisingumo išsaugojimo ateities strategijos (adaptuota pagal [33])

Fig. 2. Future strategies for fertility preservation in boys and young men (adapted according to [33])

nezė. Taip pat yra tobulinamos technologijos, kai spermatozoidai kultivuojami iš sėklidės audinio laboratorijos sąlygomis *in vitro* panaudojant specialias terpes ir augimo veiksnius (2 pav.).

IŠVADOS

Lytinių ląstelių šaldymas prieš onkologinės ligos gydymą Lietuvoje vis populiarėja. 2014 m. spermą šaldė tik du

NVI pacientai, 2015 m. – jau septyni. Įdiegus nemokamą procedūrą ir VULSK 2016 m., abiejose įstaigose (ir NVI, ir VULSK) spermą šaldė net 33 pacientai. Kaip ir JAV, Lietuvoje dažniausiai pacientams buvo diagnozuotas sėklidžių vėžys ir limfoma (JAV – atitinkamai 32 % ir 25 %, Lietuvoje – 40 % ir 20 %). Spermatozoidų koncentracija hematologinių ligonių (VULSK) šaldomuose spermės mėginiuose buvo 1,7 kartus didesnė nei sergančių sėklidžių vėžiu (NVI) – atitin-

kamai 88,44 mln./ml ir 51,07 mln./ml ($p < 0,05$). Tačiau, VULSK pacientų spermoje didžiąją dalį sudarė nejudrūs, dėl pačios ligos pažeisti D kategorijos spermatozoidai. Sergančių sėklidės vėžiu asmenų spermatogenezės pažeidimas pasireiškė spermatozoidų koncentracijos mažėjimu, o hematologinių pacientų – judrumo sutrikimais. ♦

Gauta: 2017 03 25
Priimta spaudai: 2017 06 06

Summary

FERTILITY PRESERVATION OF MEN WITH ONCOLOGICAL DISEASES: LITHUANIAN EXPERIENCE

Austėja Juškaitė, Živilė Gudlevičienė, Albertas Ulys

Background. Fertility preservation is a huge problem among young men with oncological illnesses in Lithuania because cancer as well as its treatment can lead to infertility.

Research methods. According to PSO recommendations, we have analysed the sperm of patients who had surgery between 2014 and 2016 at the National Cancer Institute (NVI) due to testicular cancer, or have been treated in the Vilnius University Hospital Santariškių klinikos (VULSK) in 2016 due to other onco-haematological illnesses and froze their semen or testicular tissue to preserve fertility. We have ascertained

which patients had their sperm and/or testicular tissue frozen. Data were analysed using *Microsoft Excel 2010* and *SPSS 22.0* software. Statistical reliability level = 0.05.

Results. 15 NVI patients participated in the study (93.3% diagnosed with testicular cancer), along with 20 VULSK patients (30% with Hodgkin's lymphoma (I–IV stages), 20% with leukaemia, 15% neuroendocrine carcinoma). NVI patients were older than VULSK patients, on average 27.2 and 23.5 years-old respectively ($p < 0.05$). The sperm count was higher in haematological patients than in NVI patients: 88.44 mil/ml and

51.07 mil/ml ($p < 0.05$). The average of sperm concentration of category D was higher among VULSK patients than NVI ($p < 0.05$). 14 NVI patients and all VULSK patients had their sperm frozen. 10 NVI patients had their testicular tissue frozen, but none of the VULSK patients.

Conclusions. Sperm count in haematological patients' samples was 1.7 times larger than in testicular cancer patients: 88.44 mil/ml and 51.07 mil/ml, respectively. However, in VULSK patients, most of the sperms were immobile, injured by oncological disease. Testicular cancer patients' injury of spermatogenesis manifest as decreasing of sperm concentration, while haematological patients' – mobility disorder.

Keywords: testicular cancer, oncohematology, infertility, sperm cryopreservation, testicular tissue cryopreservation.

LITERATŪRA

- American Cancer Society. What are the key statistics about testicular cancer? June 1, 2016.
- International Agency for Research on Cancer. Globcan. 2017.
- Ferlay J, Parkin D, Curado M, Edwards B, Shin H, Storm H, et al. Cancer incidence in five continents, vols. I to IX. IARC Cancer Base No. 9. IARC Scientific Publications No. 160. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010.
- Le Cornet C, Lortet-Tieulent J, Forman D, Béranger R, Flechon A, Fervers B, et al. Testicular cancer incidence to rise by 25% by 2025 in Europe? Model-based predictions in 40 countries using population-based registry data. *Eur J Cancer* 2014; 50: 831–9.
- Smalytė G, Aleknavičienė B, Kačėnienė A, Krilavičiūtė A, Lapašinskaitė I, Meiluvienė J, ir kt. Vėžys Lietuvoje 2012 metais. Nacionalinis vėžio institutas, Vėžio kontrolės ir profilaktikos centras, Vėžio registras, 2015.
- Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. SEER*Stat Database: Incidence – SEER 9 Regs Research Data. 2011.
- Trabert B, Chen J, Devesa SS, Bray F, McGlynn KA. International patterns and trends in testicular cancer incidence, overall and by histologic subtype, 1973–2007. *Andrology* 2015; 3(1): 4–12.
- Travis LB, Beard C, Allan JM, Dahl AA, Feldman DR, Oldenburg J, et al. Testicular cancer survivorship: research strategies and recommendations. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102(15): 1114–30.
- Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, Stinchcomb DG, Howlander N, Horner MJ, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2005. Bethesda, Md: National Cancer Institute, 2007. Last accessed July 19, 2016.
- Pedersen AD, Rossen P, Mehlsen MY, Pedersen CG, Zachariae R, von der Maase H. Long-term cognitive function following chemotherapy in patients with testicular cancer. *J Int Neuropsychol Soc* 2009; 15(2): 296–301.
- Travis LB, Fossa SD, Schonfeld SJ, McMaster ML, Lynch CF, Storm H, et al. Second cancers among 40,576 testicular cancer patients: focus on long-term survivors. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(18): 1354–65.
- van den Belt-Dusebout AW, de Wit R, Gietema JA, Horenblas S, Louwman MW, Ribot JG, et al. Treatment-specific risks of second malignancies and cardiovascular disease in 5-year survivors of testicular cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(28): 4370–8.
- Bujan L, Walschaerts M, Moinard N, Hennebicq S, Saia J, Brugnion F, et al. Impact of chemotherapy and radiotherapy for testicular germ cell tumors on spermatogenesis and sperm DNA: a multicenter prospective study from the CECOS network. *Fertil Steril* 2013; 100(3): 673–80.
- Lambertini M, Del Mastro L, Pescio MC, Andersen CY, Azim HA, Peccatori FA, et al. Cancer and fertility preservation: international recommendations from an expert meeting. *BMC Med* 2016; 14: 1.
- World Health Organization (WHO). WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press, 2010.
- Herraziz S, Novella-Maestre E, Rodríguez B, Díaz C, Sanchez-Serrano M, Mirabet V, Pellicer A. Improving ovarian tissue cryopreservation for oncologic patients: slow freezing versus vitrification, effect of different procedures and devices. *Fertility and Sterility* 2014; 101(3): 775–84.

17. Williams DH. Fertility preservation in the male with cancer. *Curr Urol Rep* 2013; 14: 315–26.
18. Loren AW, Mangu PB, Beck LN, Brennan L, Magdalinski AJ, Partridge AH, et al. Fertility preservation for patients with cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline update. *J Clin Oncol* 2013; 31(19): 2500–10.
19. Peccatori FA, Azim Jr HA, Orecchia R, Hoekstra HJ, Pavlidis N, Kesic V, et al. Cancer, pregnancy and fertility: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013; 24(Suppl 6): vi160–70.
20. Carson SA, Gentry WL, Smith AL, Buster JE. Feasibility of semen collection and cryopreservation during chemotherapy. *Hum Reprod* 1991; 6(7): 992–4.
21. Picton HM, Wyns C, Anderson RA, Goossens E, Jahnukainen K, Kliesch S, et al. A European perspective on testicular tissue cryopreservation for fertility preservation in prepubertal and adolescent boys. *Human Reproduction* 2015; 30(11): 2463–75.
22. Schover LR, Brey K, Lichtin A, Lipshultz LI, Jeha S. Oncologists' attitudes and practices regarding banking sperm before cancer treatment. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1890–7.
23. Sheth KR, Sharma V, Helfand BT, Cashy J, Smith K, Hedges JC, et al. Improved fertility preservation care for male patients with cancer after establishment of formalized oncofertility program. *J Urol* 2012; 187: 979–86.
24. Johnson MD, Cooper AR, Jungheim ES, Lanzendorf SE, Odem RR, Ratts VS. Sperm banking for fertility preservation: a 20-year experience. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 170(1): 177–82.
25. Bonetti TC, Pasqualotto FF, Queiroz P, Iaconelli Jr A, Borges Jr E. Sperm banking for male cancer patients: social and semen profiles. *Int Braz J Urol* 2009; 35: 190–7.
26. Menon S, Rives N, Mousset-Siméon N, Sibert L, Vannier JP, Mazurier S, et al. Fertility preservation in adolescent males: experience over 22 years at Rouen University Hospital. *Hum Reprod* 2009; 24: 37–44.
27. Dearing C, Breen D, Bradshaw A, Ramsay J, Lindsay K. Trends and usage in a London National Health Service Sperm Bank for cancer patients. *Human Fertility* 2014; 17(4): 289–96.
28. Depalo R, Falagario D, Masciandro P, Nardelli C, Vacca MP, Capuano P, et al. Fertility preservation in males with cancer: 16-year monocentric experience of sperm banking and post-thaw reproductive outcomes. *Therapeutic Advances in Medical Oncology* 2016; 8(6): 412–20.
29. Onofre J, Baert Y, Faes K, Goossens E. Cryopreservation of testicular tissue or testicular cell suspensions: a pivotal step in fertility preservation. *Human Reproduction Update* 2016; 22(6): 744–61.
30. Schlatt S, Ehmcke J, Jahnukainen K. Testicular stem cells for fertility preservation: Preclinical studies on male germ cell transplantation and testicular grafting. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53(2): 274–80.
31. Curaba M, Poels J, van Langendonck A, Donnez J, Wyns C. Can prepubertal human testicular tissue be cryopreserved by vitrification? *Fertility and Sterility* 2011; 95: 2123.e9–2123.e12.
32. Keros V, Rosenlund B, Hultenby K, Aghajanova L, Levkov L, Hovatta O. Optimizing cryopreservation of human testicular tissue: comparison of protocols with glycerol, propanediol and dimethylsulphoxide as cryoprotectants. *Human Reproduction* 2005; 20: 1676–87.
33. Katz DJ, Kolon TF, Feldman DR, Mulhall JP. Fertility preservation strategies for male patients with cancer. *Nature Rev Urol* 2013; 10: 463–72.