

УДК: УДК:616.69-008.6
DOI: 10.37800/RM.3.2022.74-80

МАР-ТЕСТ И ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

К.А. Владыченко¹, А.С. Федорук¹, В.А. Юзько²

¹Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина;

²Медицинский центр лечения бесплодия, г. Черновцы, Украина

Аннотация

Актуальность: Антиспермальные антитела обнаруживаются у 3-25% мужчин и женщин с диагнозом «бесплодие». Также они могут быть диагностированы у 1-10% здоровых фертильных мужчин. Наличие высокого титра антиспермальных антител – один из факторов мужского бесплодия, который может протекать «скрыто», то есть не вызывать симптомов и ухудшения общих показателей спермограммы.

Цель исследования – выявить влияние антиспермальных антител на результаты спермиологического исследования.

Методы: В ретроспективный анализ включены результаты обследования 555 мужчин на базе Медицинского центра лечения бесплодия г. Черновцы, Украина. Спермограммы исследовались согласно Руководству ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека, 5е изд., с помощью инвертированного микроскопа Olympus CKX41 в камере Маклера. Определение процента сперматозоидов, покрытых антиспермальными антителами, проводили с помощью МАР-теста (MAR-test, MAR – mixed antiglobulin reaction).

Результаты: Только у 48,3% пациентов можно предположить связь наличия антиспермальных антител с перенесенными оперативными вмешательствами, инфекциями половой системы и отягощенным аллергологическим анамнезом. Большинство изменений в показателях спермограмм коррелировали с процентом сперматозоидов, покрытых IgG.

Выявлена негативная корреляционная связь средней силы между процентом сперматозоидов категории А и процентом сперматозоидов, покрытых IgG. Персистенция IgG в сперме сопровождалась достоверным снижением морфологического качества сперматозоидов. При регрессионном анализе линия тренда демонстрировала, что при наличии 30% сперматозоидов, покрытых IgG, у пациента в эякуляте 100% сперматозоидов будут иметь патологические формы. У 52% пациентов не удалось установить этиологический фактор наличия Ig в эякуляте.

Заключение: Выяснено, что наибольшее влияние на показатели спермограмм оказывает наличие IgG. Определено, что повышение уровня антиспермальных антител в сперме приводит к достоверному увеличению процентов патологических форм и уменьшению подвижности сперматозоидов. Прогностически, наличие согласно МАР-тесту 30% и более сперматозоидов, покрытых IgG, с вероятностью 95% будет сопровождаться нарушением морфологии сперматозоидов.

Ключевые слова: МАР-тест, мужское бесплодие, диагностика, спермограмма.

Введение: В норме клетки, участвующие в сперматогенезе, отделены от иммунокомпетентных клеток с помощью гемато-тестикулярного барьера. Продукция сперматозоидов начинается в 11-13 лет, когда уже сформирована иммунная система, поэтому повреждение гемато-тестикулярного барьера может вызвать иммунный ответ на клетки герминогенного эпителия и сперматозоиды с выработкой антиспермальных антител. Такая ситуация возможна из-за отсутствия антигенов HLA-комплекса на мембране сперматогенных клеток и зрелых сперматозоидов [1].

Антиспермальные антитела (АСАТ) выявляются у 3-25% мужчин и женщин с диагнозом «бесплодие». Также они могут быть диагностированы у 1-10% здоровых фертильных мужчин [2]. Наличие высокого титра АСАТ – один из факторов мужского бесплодия, который может протекать «скрыто», то есть не вызывать симптомов и ухудшения общих показателей спермограммы. Установлена этиологическая связь выработки АСАТ с воспалительными заболеваниями половой системы, травмами яичек, перенесенной двусторонней вазорезекцией, системными заболеваниями, варикоцеле [3]. Патогенетическое действие АСАТ проявляется нарушением акросомальной реакции и созревания сперматозоидов, агглютинацией, увеличением вязкости спермы, ростом уровня оксидативного стресса и фрагментации ДНК сперматозоидов. Наличие IgA и IgG на поверхности сперматозоидов может инициировать лейкоцитоспермию и активацию фагоцитоза этих сперматозоидов. В норме фагоцитоз – это естественный механизм для уничтожения «старых» сперматозоидов или их избыточного количества, но при патологии и чрезмерной активации он может приводить к значительному снижению фертильного потенциала мужчины [4-5].

В литературе приведены данные о негативном влиянии АСАТ на эмбриогенез, имплантацию эмбриона, течение беременности и возможность оплодотворения яйцеклетки как *in vivo*, так и *in vitro* [6]. Авторы предполагают, что реакция на антигены сперматозоидов нацеливает иммунную систему матери на антигены мужчины, содержащиеся в эмбрионе [7].

В то же время организм имеет несколько звеньев, которые в норме обеспечивают иммуносупрессивный эффект и предупреждают аутоиммунное повреждение сперматозоидов. Клетки Сертоли производят белок CD-95, вызывающий апоптоз лейкоцитов в паренхиме яичка. Известно, что андрогенные стероидные гормоны обладают способностью уменьшать силу иммунного ответа как местного, так и общего. В семенной плазме имеются компоненты, которые проявляют иммуносупрессивный эффект: простагландины, трансформирующий фактор роста – β [4].

К иммунологическим причинам развития патологии репродуктивной системы мужчин можно отнести выработку антител к гормонам и нейротрансмиттерам, регулирующих функции половой системы. Исследования указывают на возможность выработки аутоантител к фолликулостимулирующему гормону, лютеинизирующему гормону, эстрадиолу, прогестерону, хорионическому человеческому гонадотропину, эндорфинам и серотонину [5]. Поэтому иммунологический контроль за половой системой играет немаловажную роль как в норме, так и при развитии патологических процессов. Данные обо всех звеньях регуляции иммунологического контроля окончательно не выяснены, поэтому эти процессы нуждаются в дальнейшем изучении.

Цель исследования – выявить влияние антиспермальных антител на результаты спермиологического исследования.

Материалы и методы: В ретроспективный анализ включены результаты обследования 555 мужчин на базе Медицинского центра лечения бесплодия г. Черновцы, Украина. Критериями исключения пациентов из исследования были азооспермия или отсутствие достаточного количества подвижных сперматозоидов, что делало невозможным проведение теста на наличие антиспермальных антител.

Спермограммы исследовались в соответствии Руководством ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека, 5е изд. [8] с помощью инвертированного микроскопа Olympus CKX41 в камере Маклера. Определение процента сперматозоидов, покрытых антиспермальными антителами, проводили с помощью МАР-теста (MAR-test, MAR-mixed antiglobulin reaction) и набора для определения антиспермальных антител IgG и IgA "SpermMarIgGTest",

"FertiProN.V" (производства Бельгии).

Статистическая обработка данных проведена с помощью программы "STATISTICA" v.10.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты: Средний возраст мужчин, включенных в исследование, составлял 32,48±7,96 года. Средний возраст планирования первой беременности показывает тенденцию роста во всем мире. У всех пациентов результаты лабораторного обследования на наличие инфекций половой системы были отрицательными, но в анамнезе у 198 мужчин (35,7%) имелись положительные тесты на хламидиоз (31 пациент – 15,7%), микоплазмоз (67 пациентов – 33,8%), трихомониаз (34 пациента – 17,2%), уреоплазмоз (66 пациентов – 33,3%). Перенесенные инфекции половой системы у этой группы пациентов расценены как вероятный этиологический фактор продукции АСАТ. При этом отмечена тенденция к преобладанию показателей IgA над IgG.

Аллергологический анамнез был отягощен у 23 пациентов (4,1%): бронхиальная астма – 7 мужчин, поллиноз – 16 пациентов.

Оперативные вмешательства в органах репродуктивной системы в анамнезе имели 47 мужчин (8,5%), а именно: односторонняя орхипексия – 4, операция Иванисевича слева – 36, операция Мармара слева – 2, по поводу гидроцеле – 5.

Если подсчитать процент пациентов, у которых можно предположить связь наличия АСАТ по вышеперечисленным причинам, то мы получим только 48,3% случаев.

Для выявления влияния АСАТ на показатели спермиологического исследования применен корреляционный анализ (таблица 1).

Таблица 1 – Корреляционная связь между показателями спермограмм (n = 555)

Пары корреляционной связи		Коэффициент корреляции, r	Достоверность корреляционной связи, p
Процент сперматозоидов категории А	Процент сперматозоидов, покрытых IgG	-0,45	p<0,05
Процент сперматозоидов категории D	Процент сперматозоидов, покрытых IgG	0,43	p<0,05
Количество лейкоцитов	Процент сперматозоидов, покрытых IgA	0,49	p<0,05
Количество лейкоцитов	Процент сперматозоидов, покрытых IgG	0,49	p<0,05
Процент морфологически нормальных сперматозоидов	Процент сперматозоидов, покрытых IgG	-0,46	p<0,05
Процент морфологически патологических сперматозоидов	Процент сперматозоидов, покрытых IgG	0,51	p<0,05

Большинство изменений показателей спермограмм коррелировали с процентом сперматозоидов, покрытых IgG. Эти данные указывают на то, что увеличение уровня IgG играет немаловажную роль в развитии патоспермии.

Выявлена отрицательная корреляционная связь средней силы между процентом сперматозоидов категории А и процентом сперматозоидов, покрытых IgG (рисунок 1).

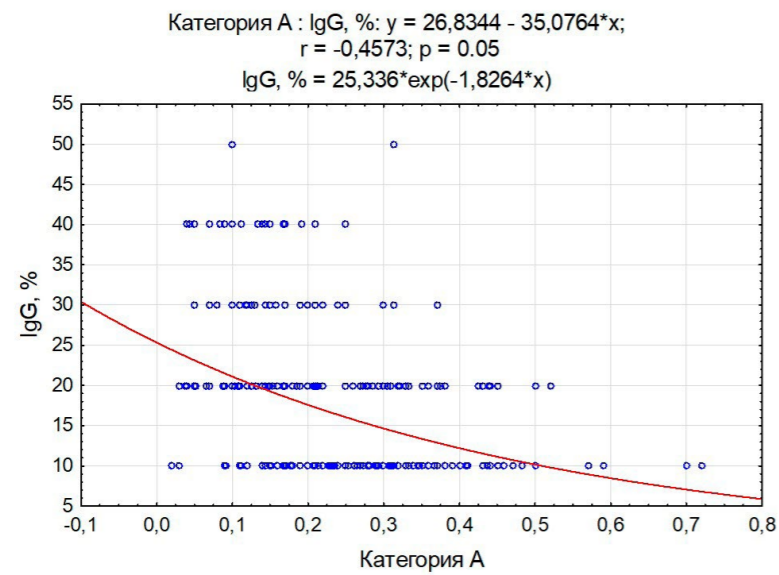


Рисунок 1 – Регрессионный анализ между процентом сперматозоидов категории A и процентом сперматозоидов, покрытых IgG (n=555)

Корреляционный анализ демонстрирует вероятную связь средней силы между процентом сперматозоидов, покрытых IgG, и показателями подвижности сперматозоидов категорий A, D (таблица 1).

Прямая корреляционная связь средней силы установлена между количеством лейкоцитов и процентом сперматозоидов, покрытых IgA (рисунок 2).

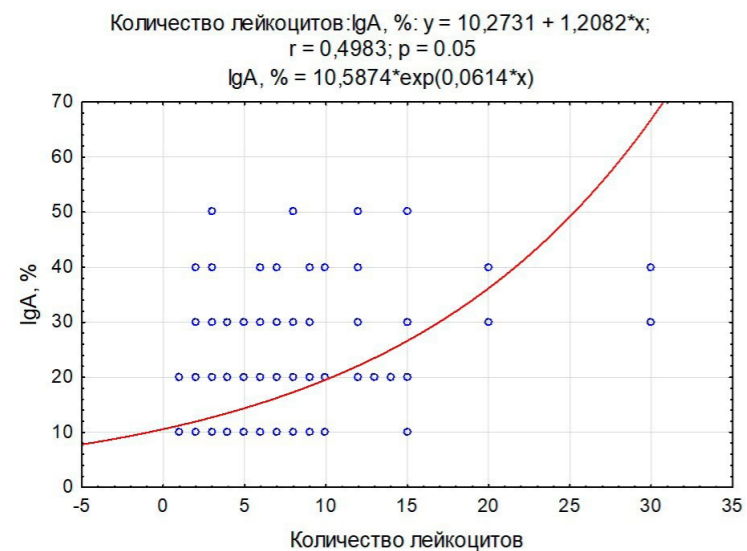


Рисунок 2 – Регрессионный анализ между количеством лейкоцитов и процентом сперматозоидов, покрытых IgA (n=555)

При росте процента сперматозоидов, покрытых IgA, отмечается не только прямая корреляция с количеством лейкоцитов, но и снижение процента сперматозоидов категории A (рисунок 3).

Персистенция IgG в сперме сопровождается возможным снижением морфологического качества сперматозоидов (таблица 1). Линия тренда демонстрирует прогноз: при наличии 30% сперматозоидов, покрытых IgG, у пациентов в эякуляте 100% сперматозоидов будут иметь патологические формы (рисунок 4).

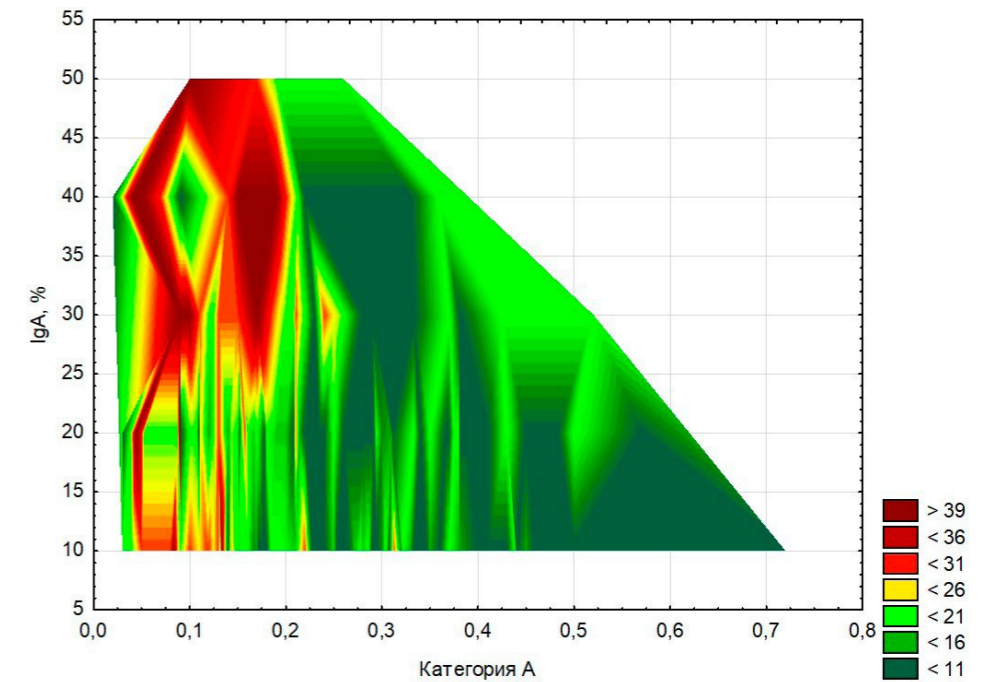


Рисунок 3 – Корреляционный анализ между процентом сперматозоидов категории A и процентом сперматозоидов, покрытых IgA (n=555)

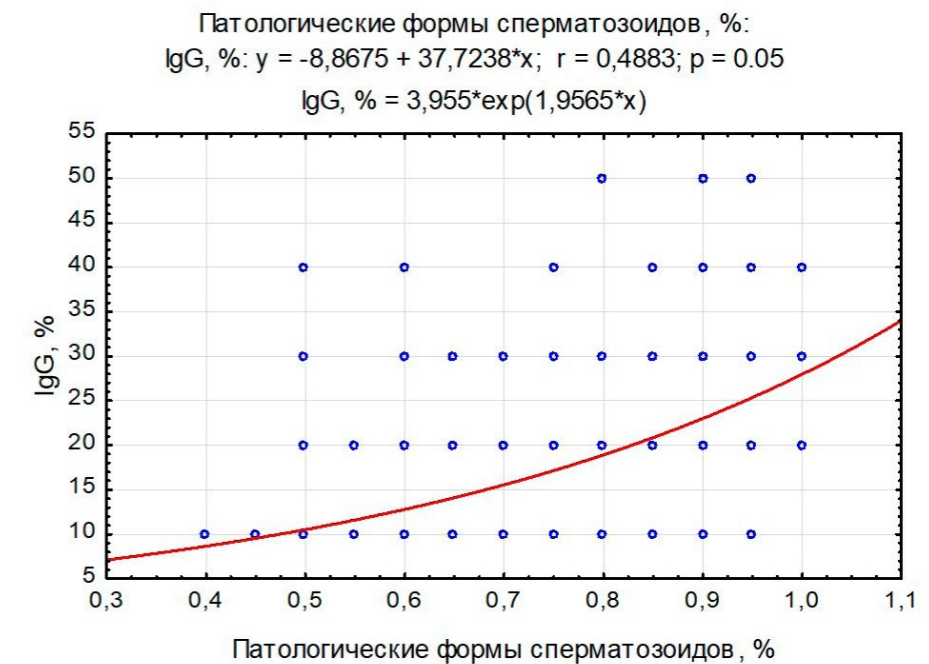


Рисунок 4 –Регрессионный анализ между процентом патологических форм и процентом сперматозоидов, покрытых IgG (n=555)

Обсуждение: В настоящее время референтные нормы Ig в спермиологическом исследовании остаются дискуссионными. Этиологический фактор наличия антиспермальных антител более чем в половине случаев не удаётся установить. Наиболее выраженные изменения в показателях спермограмм связаны с персистенцией IgG. Несмотря на рекомендованный производителем тест-системы референсный показатель до 40%, мы считаем, что следует рассматривать более низкий порог этого значения. Роль иммунологических процессов в мужском репродуктивном здоровье окончательно не выяснена, поэтому требуются дальнейшие исследования.

Заключение: У 52% пациентов не удалось установить этиологический фактор наличия Ig в эякуляте. Определено, что увеличение количества сперматозоидов, покрытых IgA и IgG, приводит к достоверному увеличению процента патологических форм и уменьшению подвижности сперматозоидов. С помощью регрессионного анализа установлено, что наличие согласно МАР-тесту 30% и более сперматозоидов, покрытых IgG, с вероятностью 95% будет сопровождаться нарушением морфологии сперматозоидов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Божедомов В.А., Рохликов И.М., Третьяков А.А. Актуальные вопросы оказания помощи парам с мужским фактором бездетного брака: клинические и организационно-методические аспекты // Андрол. и генит. хирургия. – 2013. – № 4. – С. 7-16 [Bozhedomov V.A., Roxlikov I.M., Tret'yakov A.A. Aktual'nye voprosy okazaniya pomoshhi param s muzhskim faktorom bezdetnogo braka: klinicheskie i organizacionno-metodicheskie aspekty // Androl. i genit. xirurgiya. – 2013. – № 4. – S. 7-16 (in Russ.)]. <https://cyberleninka.ru/article/n/aktualnye-voprosy-okazaniya-pomoschi-param-s-muzhskim-faktorom-bezdetnogo-braka-klinicheskie-i-organizatsionno-metodicheskie-aspekty>
2. Божедомов В.А., Гузов И.И., Теодорович О.В. Иммунологические причины бездетного брака (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2004. – № 6. – С. 57–62 [Bozhedomov V.A., Guzov I.I., Teodorovich O.V. Immunologicheskie prichiny bezdetnogo braka (obzor literatury) // Problemy reprodukcii. – 2004. – № 6. – S. 57–62 (in Russ.)]. http://rusmedserv.com/files/jprobrep/Re_04_06.pdf#page=57
3. Khan G-A.N., Agarwal D.K., Rabbani T. Antisperm antibody as a cause of immunological infertility in males // J. Adv. Res. Biol. Sciences. – 2012. – Vol. 4 (1. – P. 1-4. https://www.researchgate.net/profile/Gouri-Bhoite/publication/317561386_Study_Of_Lipid_Profile_In_Patients_With_Major_Depressive_Disorder/links/5954b988aca2729e74bbe9cd/Study-Of-Lipid-Profile-In-Patients-With-Major-Depressive-Disorder.pdf#page=9
4. Cui D., Han G., Shang Y., Liu C., Xia L., Li L., Yi S. Antisperm antibodies in infertile men and their effect on semen parameters: a systematic review and meta-analysis // Clin. Chim. Acta. – 2015. – Vol. 444. – P. 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.01.033>
5. Vickram A.S., Dhama K., Chakraborty S. Role of Antisperm Antibodies in Infertility, Pregnancy, and Potential for Contraceptive and Antifertility Vaccine Designs: Research Progress and Pioneering Vision // Vaccines. – 2019. – Vol. 7. – P. 116-148. <https://doi.org/10.3390/vaccines7030116>
6. Lombardo F., Gandini L., Lenzi A., Dondero F. Antisperm immunity in assisted reproduction // J. Reprod. Immunol. – 2004. – Vol. 62 (1-2). – P. 101-109. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2003.08.005>
7. Почерников Д.Г., Герасимов А.М., Гусейнова С.Г., Наумов Н.П. Повышенное содержание антиспермальных антигенов как предиктор неблагоприятного исхода беременности после применения вспомогательных репродуктивных технологий // Андрол. и генит. хирургия. – 2019. – № 1. – С. 69–74 [Pochernnikov D.G., Gerasimov A.M., Guseynova S.G., Naumov N.P. Povyshennoe sodержanie antispermal'nykh antitel kak prediktor neblagopriyatnogo isxoda beremennosti posle primeneniya vspomogatel'nykh reproduktivnykh tehnolo// Androl. igenit. xirurgiya. – 2019. – № 1. – S. 69–74 (in Russ.)]. <https://doi.org/10.17650/2070-9781-2019-20-1-69-74>
8. Всемирная организация здравоохранения, Медико-генетический научный центр РАМН. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. – 5 изд. – Издательство "КАПИТАЛ ПРИНТ" ЗАО, 2012. – 291 стр. [Vsemirnaya organizaciya zdravooxraneniya, Mediko-geneticheskij nauchnyj centr RAMN. Rukovodstvo VOZ po issledovaniyu i obrabotke e'yakulyata cheloveka. – 5 izd. – Izdatel'stvo "KAPITAL PRINT" ZAO, 2012. – 291 str. (in Russ.)]. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112544>

MAR-TEST AND SPERMIOLOGICAL INDICATORS

K.A. Vladychenko¹, O.S. Fedoruk¹, V.O. Yuzko²
¹Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine;
²Medical center for the treatment of infertility, Chernivtsi, Ukraine

Abstract

Relevance: Antisperm antibodies are detected in 3-25% of cases in men and women diagnosed with infertility. They can also be diagnosed in 1-10% of healthy fertile men. A high titer of AST is one of the factors of male infertility, which can be "hidden," i. e. not causing symptoms or deterioration of the overall spermogram.

This study aimed to identify the effect of antisperm antibodies on spermiological indicators.

Methods: The retrospective analysis included the test results of 555 men examined at the Medical Center for Infertility Treatment in Chernivtsi, Ukraine. Spermograms were analyzed following the WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th ed., using an inverted microscope Olympus CKX41 in the Makler chamber. The percentage of spermatozoa coated with antisperm antibodies was determined using MAR-test (MAR – mixed antiglobulin reaction).

Results: Only 48.3% of patients could have a suspected relationship between the presence of antisperm antibodies and undertaken surgery, genital infections, and allergy history. Most changes in sperm counts correlated with the percentage of IgG-coated spermatozoa.

A negative medium-strength correlation was found between the percentage of Category A spermatozoa and the percentage of IgG-coated spermatozoa. The persistence of IgG in semen was accompanied by a reliable decrease in the morphological quality of sperm. In regression analysis, the trend line showed that the presence of 30% IgG-coated spermatozoa resulted in 100% of pathological spermatozoa in the ejaculate. In 52% of patients, Ig in the ejaculate as an etiological factor could not be established.

Conclusion: The presence of IgG was found to have the greatest impact on spermogram indices. An increase in antisperm antibodies in the semen was found to lead to a significant increase in the percentage of pathological forms and a decrease in sperm motility. Prognostically, 30% or more of IgG-coated spermatozoa will be accompanied by a violation of the morphology of spermatozoa with a probability of 95%.

Keywords: MAR test, male infertility, diagnosis, spermogram.

МАР-ТЕСТ И ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМИОЛОГИЧНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

К.А. Владыченко¹, А.С. Федорук¹, В.А. Юзько²

¹Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина;

²Медицинский центр лечения бесплодия, г. Черновцы, Украина

Андатпа

Өзектілігі: «Бедеулік» диагнозы бар ерлер мен әйелдердің 3-25% антиспермальды антиденелер анықталуда. Сонымен қатар дені сау фертилді ерлердің 1-10% байқалады.

Антиспермальды антиденелердің жоғары титрінің болуы – «жасырын» түрде болатын, яғни спермограмманың жалпы көрсеткіштерін төмендетпейтін және белгілерін тудырмайтын ерлердегі бедеуліктің бір факторы болып табылады.

Зерттеудің мақсаты – спермиологиялық зерттеулердің нәтижелеріне антиспермальды антиденелердің әсерін анықтау.

Әдістер: Ретроспективті талдауға Украина, Черновцы қ. Бедеулікті емдеу медициналық орталығының базасында өткен 555 ерлердің тексеру нәтижелері қосылған. Спермограммалар Маклер камерасындағы Olympus CKX41 инвертелген микроскоптың көмегімен, ДДҰ-ның адамның эякулятын зерттеу және өңдеу бойынша нұсқаулығына, 5-ші басылым, сәйкес зерттелді. Антиспермальды антиденелермен қапталған сперматозоидтардың пайызын анықтау МАР-тесті арқылы жүргізілді (MAR-test, MAR – mixed antiglobulin reaction).

Нәтижелері: Пациенттердің тек 48,3% антиспермальды антиденелердің болуын хирургиялық араласулармен, жыныс жүйесінің инфекцияларымен және ауыр аллергиялық тарихпен байланыстыруға болады. Спермограмма көрсеткіштеріндегі өзгерістердің көпшілігі IgG жабылған сперматозоидтардың пайызымен байланысты болды.

А санатындағы сперматозоидтардың пайызы мен IgG жабылған сперматозоидтардың пайызы арасындағы орташа күштің теріс корреляциялық байланысы анықталды. Шәуеттегі IgG тұрақтылығы сперматозоидтардың морфологиялық сапасының сенімді төмендеуімен қатар жүрді. Регрессиялық талдау кезінде тренд сызығы IgG жабылған сперматозоидтардың 30% болған кезде эякуляциядағы пациентте сперматозоидтардың 100% патологиялық формаларға ие болатынын көрсетті. Пациенттердің 52% эякулятта Ig болуының этиологиялық факторын анықтай алмады.

Қорытынды: Спермограмма көрсеткіштеріне ең үлкен әсер IgG бар екендігі анықталды. Сперматозоидтардағы антиспермальды антиденелер деңгейінің жоғарылауы патологиялық формалардың пайызының сенімді өсуіне және сперматозоидтардың қозғалғыштығының төмендеуіне әкелетіні анықталды. Болжам бойынша, IgG-мен қапталған сперматозоидтардың 30% немесе одан да көп МАР-тестіне сәйкес болуы 95% ықтималдықпен сперматозоидтардың морфологиясының бұзылуымен бірге жүреді.

Негізгі сөздер: МАР-тест, ерлер бедеулігі, диагностика, спермограмма.

Данные авторов:

Владыченко Константин Анатольевич (корреспондирующий автор) – к.м.н., ассистент кафедры урологии и нейрохирургии, Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина, e-mail: vladychenko@meta.ua, тел.: 8(050)6643166, <https://orcid.org/0000-0001-5523-8735>

Федорук Александр Степанович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой урологии и нейрохирургии, Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы, Украина, e-mail: fedoruk.oleksandr@bsmu.edu.ua, тел. +380 372 553 754, <https://orcid.org/0000-0002-9433-2430>

Юзько Виктория Александровна – врач акушер-гинеколог, Медицинский центр лечения бесплодия г. Черновцы, Украина, e-mail: reprod.cv@gmail.com, тел. 8 (775) 007 0700, <https://orcid.org/0000-0003-2793-8851>

Адрес для корреспонденции: Владыченко К.А., Буковинский государственный медицинский университет, Украина 58000, г. Черновцы, пл. Театральная, 2.

Вклады авторов:

вклад в концепцию – **Владыченко К.А.**

научный дизайн – **Федорук А.С.**

исполнение заявленного научного исследования – **Владыченко К.А.**

интерпретация заявленного научного исследования – **Федорук А.С., Владыченко К.А.**

создание научной статьи – **Владыченко К.А., Юзько В.А.**

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность исследования: Авторы несут полную ответственность за содержание данной статьи.