

## АНТИСПЕРМАЛЬНІ АНТИТІЛА У ЧОЛОВІКІВ З НЕПЛІДДЯМ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

А.М. Гаврилук <sup>1</sup>, В.В. Чоп'як <sup>1</sup>, Й.А. Наконечний <sup>2</sup>, М.З. Каменічна <sup>3</sup>, М.З. Курніш <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Кафедра клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

<sup>2</sup> Кафедра урології ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

<sup>3</sup> Відділ імунобіології репродукції та стовбурових клітин Інституту генетики людини ПАН, м. Познань, Польща

**Вступ.** Непліддя – це нездатність пари досягнути вагітності після року відкритого статевого життя. Згідно з цим критерієм, неплідними є 13–18% пар. Чоловічий фактор у родинному неплідді має місце у більш ніж половини випадків. Причини непліддя чоловіків до кінця не з'ясовані, однак в основному його пов'язують із поганою якістю сперматозоїдів [1].

Інфекції чоловічої статеві системи та запальні процеси є важливими етіологічними факторами непліддя. Їх перебіг залежить від стану імунної системи чоловіка. Згідно з нормами ВООЗ, присутність в еякуляті лейкоцитів у кількості більше ніж 1 млн/мл є показником запалення. Проте зв'язок між лейкоцитоспермією та запаленням чоловічих статевих органів не є безперечним. Окремі чоловіки мають періодичну лейкоцитоспермію. Особливо це стосується осіб із варикозним розширенням вен сім'яного канатика, курців і тих, хто зловживає алкоголем, тощо. При лейкоцитоспермії потрібно розширити діагностичний процес клінічним оглядом, УЗД-обстеженням ректальним зондом та серологічним дослідженням з метою виключення інфекції (зокрема *Chlamydia trachomatis*).

Фертильність чоловіка може порушитися через біохімічні зміни у спермі [2]. Крім цього, якість сперми суттєво погіршується під впливом алкоголю, нікотину, професійних шкідливостей, хронічної експозиції до радіоактивного випромінювання, психологічних стресів, тривалого підвищення температури (гаряче літо, тісна білизна), в результаті нервової і загальної перевтоми, а також гострих та хронічних хвороб, навіть внаслідок надваги [3].

Хронічний запальний процес доволі часто асоціюється з формуванням аутоімунного синдрому чи хвороби. Аутоімунітет (аутоагресія) є комплексною проблемою, яка розвивається у результаті відміни толерантності імунної системи до власних аутоантигенів за участю цитокінів,

хемокінів, сигнальних молекул та активізації клітин багатьох типів [4].

Яєчка є так званими «позабар'єрними» відносно імунної системи органами. Толерантність імунної системи чоловіка до антигенів сперматозоїдів забезпечують дві групи факторів – так званий анатомічний бар'єр кров-яєчко та стан імунологічної толерантності. Секвестрацію, або анатомічне відгородження від імунного нагляду, називають пасивним фактором підтримки імуннологічної толерантності, а імунорегуляцію за участю різних медіаторів – активним фактором. Суть імунологічної толерантності яєчок полягає в тому, що вона забезпечує механічне відділення всіх аутоантигенів статеві системи від контакту з клітинами імунної системи [5, 6]. В імунорегуляції беруть участь два механізми: інгібіція імунної відповіді до спермальних аутоантигенів та блокування синтезу антиспермальних антитіл (АСА). Інгібіція реалізується за рахунок імуносупресивних цитокінів, регуляторно-супресорних Т-лімфоцитів, апоптозу аутореактивних Т-лімфоцитів. Якщо в організмі чоловіка формується захворювання, в основі якого лежить запальний процес, то імунна система активується, що загрожує відміною імунологічної толерантності та запуском аутоагресії проти їх антигенів антиспермальними антитілами (АСА) [7].

Синтез АСА може бути причиною розвитку аутоімунної реакції, яка веде до імунозалежного непліддя. Найвідомішими причинами синтезу антиспермальних антитіл у чоловіків є: відміна імунологічної толерантності щодо сперматозоїдів; зміни в антигенному складі сперми; розрив гемато-тестикулярного бар'єру внаслідок фізичної, хімічної травми чи інфікування; оральна або анальна експозиція спермальних антигенів до слизових оболонок; вазектомія; агенезія; перенесені інфекції сечостатевої системи; анатомічні вади яєчок (крипторхізм або пере-

крут яєчка); генітальний муковісцидоз; варикоцеле [8].

Автоагресія проти тканини яєчок за участю специфічних автоантитіл проти автоантигенів чоловічої статевої системи, яка спричинює непліддя, діагностується як автоімунний орхіт [9, 10]. Його класифікують як: первинний автоімунний орхіт — ізольоване непліддя у присутності автоантитіл (АСА чи антитіл проти антигенів базальної мембрани або семінофорних каналців без наявної системної автоімунної хвороби у пацієнта) і вторинний автоімунний орхіт та/або тестикулярний васкуліт, асоційований зі системною автоімунною хворобою [11]. Основою імунопатогенезу автоімунного орхіту є відміна імунологічної толерантності щодо автоантигенів чоловічої статевої системи, яка починається з відповіді Т-залежної ланки імунітету проти них, а також проти патогенних мікроорганізмів, якими інфікований пацієнт і які пройшли через бар'єр кров-яєчко [12]. Баланс між запаленням та «імунопривілейованим» статусом гонад залежить від функцій цитокінів, які виконують обидві ролі — як прозапальних медіаторів (наприклад TNF- $\alpha$ ), так і інгібіторів (зокрема TGF- $\beta$ ) [13, 14]. Імунні клітини експресують рецептори системи Fas/Fas-ліганд, що призводить до апоптозу сперматоцитів та сперматид [15]. Існують дані, що Toll-like рецептори, ідентифіковані на клітинах Сертолі, посилюють вивільнення прозапальних цитокінів [16].

Зазвичай дослідження чоловічої фертильності проводиться в три етапи: анамнез (виявлення факторів ризику — ендокринні хвороби, екзогенні інтоксикації тощо); клініка — діагностика патології геніталій (а- чи гіпотрофія яєчок, ретенція гонад, варикоцеле, гіпо- або епіспадія тощо); параклінічні дані (кількісні і якісні зміни еякуляту, рівень гіпофізарно-статевих гормонів, синтез АСА тощо). Використовуючи тільки рутинні діагностичні обстеження, ми не можемо виявити причини непліддя у 10–15% пар. Прості тести для визначення можливої наявності АСА є легкими у виконанні і дають можливість безпосередньо спостерігати за поведінкою сперматозоїда в шийковому слизі, але інтерпретація результатів є важкою і неоднозначною. До таких тестів належать: контактний тест сперматозоїдів із шийковим слизом; тест пенетрації сперматозоїдами шийкового слизу та посткоїтальний тест. Особливо багато дискусій викликає інтерпретація результатів посткоїтального тесту. На його кінцевий результат мають вплив не тільки імунологічні причини, але і біохімічний склад шийкового слизу та гормональні фактори [8].

Сьогодні існує багато методів визначення АСА, які дають інформацію про наявність їх у циркуляції або визначають відсоток сперматозоїдів з антитілами, фіксованими на поверхні сперматозоїдів. Досі використовують «старі» класичні аглютинаційні тести. Виконуються також сучасніші дослідження — імунофлуоресцентний тест, радіочутливий антиглобуліновий тест, імуноферментний тест, проточна цитометрія. Найпопулярнішими методами виявлення АСА є тест MAP (змішана антиглобулінова реакція) та тест з використанням поліакриламідних кульок і фазово-контрастної мікроскопії (ІВТ — immuno-bead test). Частина із цих методів дає можливість визначити ізотип імуноглобуліну або топографічне місце зв'язування антитіл до сперматозоїда. Але велика різноманітність тестів утруднює порівняння результатів, отриманих у різних лабораторіях. Підбір методу, стандартизація, інтерпретація результатів та їх клінічне значення є предметом тривалої дискусії. Зараз тривають пошуки нових, точніших методів, які найбільше будуть підходити клініцистам [17, 18, 19, 20].

**Мета дослідження:** визначити рівень, клас та топографію АСА у контрольній групі здорових плідних чоловіків та групах чоловіків із непліддям різного генезу. Довести або заперечити імунний генез непліддя у групах пацієнтів, яких обстежували.

#### **Матеріали та методи дослідження.**

**Пацієнти.** Ми обстежили 100 чоловіків (27 здорових — контрольна група, 73 — неплідних). З неплідних чоловіків було сформовано 5 груп: неплідні чоловіки зі системними автоімунними хворобами — 18; неплідні чоловіки з анатомічними порушеннями (варикоцеле) — 22; неплідні пацієнти зі соматичною патологією (гепатит А в анамнезі, метаболічний синдром, кардіосклероз, пухлини внутрішніх органів та щитовидної залози в анамнезі, хронічні запальні хвороби уrogenітальної зони, ЛОР-органів) — 10; пацієнти з ідіопатичним непліддям — 13; соматично здорові чоловіки, дружини яких мали в анамнезі 2–3 ранні викидні — 10). Вік обстежуваних осіб від 18 до 30 років. Анкети, заповнені обстежуваними, містили інформацію, яка стосувалася загального стану здоров'я, перенесених хвороб у дитинстві і під час пубертатного періоду та потенційного впливу чинників навколишнього середовища (алкоголь, куріння, вплив іонізуючого випромінювання, вплив ліків та нікотину під час вагітності матері тощо).

**Метод.** Матеріалом для дослідження були зразки сироватки крові та сім'яної рідини, яку отримували шляхом мастурбації після статевої

абстиненції до 3–5 діб. Після розрідження еякуляту його центрифугували 20 хв. при 3000 об/хв., супернатант (сім'яну рідину) відбирали та заморожували при  $-40^{\circ}\text{C}$ . Сироватку крові отримували за рутинною процедурою і зберігали при цій же температурі.

АСА визначали, використовуючи непрямий тест з поліакриламідними кульками, навантаженими анти-антиспермальними антитілами до суміші людських імуноглобулінів класів G, A, M (indirect immunobead test – IDIBT) за стандартною методикою [18]. Суть методу полягає у використанні донорських рухливих сперматозоїдів, виділених з еякуляту здорових АСА-негативних чоловіків за технологією swim-up (після інкубації у певному буфері найрухливіші сперматозоїди переходять у фракцію, яка знаходиться у пробірці найвище, після чого відбираються окремо). Ці сперматозоїди відмивали у буфері НАМ F-10 із 1%-вою бичачою сироваткою (BSA) та доводили до концентрації 25–30 млн у 1 мл буферу. 100 мкл цієї суспензії змішували зі 100 мкл сироватки крові та 200 мкл буфера НАМ F-10/BSA та інкубували 1 год. при  $37^{\circ}\text{C}$ . Після інкубації клітини відмивали у цьому ж буфері та ресуспендували до концентрації 25–30 млн у 1 мл, 5 мкл суспензії поліакрилових кульок (5 мг/мл) змішували із 10 мкл кінцевої суспензії сперматозоїдів та інкубували у скляній

камері 8 хв. при кімнатній температурі. Сперматозоїди оглядали методом фазово-контрастної мікроскопії при збільшенні у 400 разів. Рухливі сперматозоїди, які приєднали до своєї поверхні більше як одну кульку, рахували як позитивні. Враховували також, до якої частини сперматозоїда (голівка, середина хвостика, хвостик) була зафіксована кулька. Таким чином, виявляли загальний відсоток антитіл (суміш різних класів), а потім АСА-позитивні матеріали обстежували далі для визначення окремих класів АСА та їх топографії за модифікованими методиками [17, 18, 21].

**Статистика.** Для оцінки достовірності порівняння результатів у групах чоловіків з непліддям різного генезу з контрольною групою використовували метод Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** Для виявлення АСА ми обстежували сім'яну рідину та сироватку крові здорових чоловіків із контрольною групою та неплідних чоловіків із непліддям різного генезу. Результати обстеження сім'яної рідини чоловіків із контрольною групою та пацієнтів із непліддям різного генезу подані у табл. 1. Отримані нами дані показали, що в усіх групах обстежених пацієнтів у сім'яній рідині виявлено АСА. Найвищими показниками скринінгового тесту були у групах пацієнтів зі соматичною патологією, ідіопатичним непліддям та

Таблиця 1

Антиспермальні антитіла різних класів у сім'яній рідині здорових плідних чоловіків та неплідних пацієнтів з різних груп

№ з.п.	Групи пацієнтів	Загальний відсоток АСА позитивних	IgG, % (сім'яна рідина)	% більших від 0	IgA, % (сім'яна рідина)	% більших від 0
1.	АСА у контрольній групі здорових плідних чоловіків (n=20)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
2.	АСА у групі чоловіків з автоімунними хворобами (n=14)	14,29±9,35 <sup>1,2</sup>	0,0±0,0	0,0±0,0	0,57±0,4 <sup>1</sup>	14,29±9,35 <sup>1</sup>
3.	АСА у групі чоловіків з анатомічними вадами (n=22)	9,09±0,1 <sup>1</sup>	0,0±0,0	0,0±0,0	0,23±0,16 <sup>1</sup>	9,09±6,13 <sup>1</sup>
4.	АСА у групі чоловіків із соматичною патологією (n=8)	25,0±15,31 <sup>1,2</sup>	0,0±0,0	0,0±0,0	0,38±0,38 <sup>1</sup>	12,50±11,69 <sup>1</sup>
5.	АСА у групі чоловіків з ідіопатичним непліддям (n=13)	30,77±12,8 <sup>1,2</sup>	2,08±1,54 <sup>1</sup>	23,08±11,69 <sup>1</sup>	2,0±1,4 <sup>1</sup>	23,08±11,69 <sup>1</sup>
6.	АСА у групі здорових чоловіків, жінки яких мали 2–3 ранніх викидні (n=7)	42,86±18,7 <sup>1,2</sup>	2,00±2,0 <sup>1</sup>	14,29±13,23 <sup>1</sup>	5,29±3,21 <sup>1</sup>	42,86±18,7 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> – статистично достовірні різниці між контрольною групою та групами чоловіків із непліддям різного генезу ( $p < 0,05$ );

<sup>2</sup> – статистично достовірні різниці між групою чоловіків з анатомічними вадами та групою чоловіків з автоімунними хворобами, групою чоловіків із соматичною патологією, групою чоловіків з ідіопатичним непліддям та групою здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні ( $p < 0,05$ ).

соматично здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні. При ідентифікації класів АСА ми виявили, що у сім'яній рідині всіх обстежуваних неплідних чоловіків містилися тільки антитіла класів IgG та IgA, антитіл класу IgM не виявили. Антитіла класу IgG виявили лише у групах чоловіків з ідіопатичним непліддям та соматично здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні. Антитіла класу IgA були виявлені в усіх групах обстежуваних неплідних чоловіків, найвищі показники були також у групах чоловіків з ідіопатичним непліддям та соматично здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні.

Результати обстеження сироватки крові чоловіків з контрольної групи та пацієнтів із непліддям різного генезу подані у табл. 2. Отримані дані показали, що в усіх групах обстежуваних пацієнтів у сироватці крові було виявлено АСА. Найвищими показники скринінгового тесту були у групах пацієнтів з автоімунними хворобами та ідіопатичним непліддям. При ідентифікації класів АСА – у сироватці крові всіх обстежуваних неплідних чоловіків виявлялися три класи – IgG, IgA, IgM. Найвищий рівень антитіл класу IgG виявили у групах чоловіків зі соматичними хворобами, ідіопатичним непліддям та

соматично здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні. Найвищі рівні антитіл класу IgA були виявлені у групі чоловіків з ідіопатичним непліддям. Найвищі рівні антитіл класу IgM були виявлені у чоловіків з автоімунними хворобами.

Ми вивчали топографію АСА, тобто місця на сперматозоїді, до яких фіксувалися антитіла. У групах здорових чоловіків з автоімунними хворобами та анатомічними вадами було виявлено тільки топографічну локалізацію Тt (кінець хвостика). У групах чоловіків зі соматичною патологією, ідіопатичним непліддям та соматично здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні, виявляли антитіла з топографічною локалізацією Н (голівка), Т (середина хвостика) та Тt (кінець хвостика). Рівень антитіл з локалізацією Н у групах чоловіків зі соматичною патологією був близько 3–5%, у соматично здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні, рівень таких антитіл становив 10–12%. Найвищий рівень антитіл локалізації Н був у групі чоловіків з ідіопатичним непліддям і становив 30–33%.

Виявлення топографічної локалізації прикріплення АСА до сперматозоїда має велике

Таблиця 2

Антиспермальні антитіла різних класів у сироватці крові здорових плідних чоловіків та неплідних пацієнтів із різних груп

№ з.п.	Групи пацієнтів	Загальний відсоток АСА позитивних	IgG, % (сироватка)	% більших від 0	IgA, % (сироватка)	% більших від 0	IgM, % (сироватка)	% більших від 0
1.	АСА у контрольній групі здорових плідних чоловіків (n=20)	5,0±4,87	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,1±0,1	5,0±4,87 <sup>5</sup>
2.	АСА у групі чоловіків з автоімунними хворобами (n=14)	42,86±13,23 <sup>1</sup>	0,43±0,29	14,29±9,35	0,07±0,07	7,14±6,88	2,29±1,1	28,57±12,07 <sup>5</sup>
3.	АСА у групі чоловіків з анатомічними вадами (n=22)	9,09±0,1 <sup>2</sup>	0,32±0,32	4,55±4,44	0,09±0,09	4,55±4,44	0,45±0,34	9,09±6,13 <sup>5</sup>
4.	АСА у групі чоловіків зі соматичною патологією (n=8)	37,5±17,12 <sup>3</sup>	1,38±1,38	12,5±11,69	0,88±0,88	12,50±11,69	0,88±0,88	12,5±11,69 <sup>5</sup>
5.	АСА у групі чоловіків з ідіопатичним непліддям (n=13)	38,46±13,49 <sup>4</sup>	1,38±0,84	23,08±11,69	2,15±1,34	23,08±11,69	0,31±0,24	15,38±10,01 <sup>5</sup>
6.	АСА у групі здорових чоловіків, жінки яких мали 2–3 ранніх викидні (n=7)	28,57±17,07	1,71±1,71	14,29±13,23	0,29±0,29	14,29±13,23	0,0±0,0	0,0±0,0 <sup>5</sup>

Примітки:

<sup>1</sup> – статистично достовірна різниця між контрольною групою та групою пацієнтів з автоімунними хворобами (p<0,05);

<sup>2</sup> – статистично достовірна різниця між групою чоловіків з автоімунними хворобами та групою чоловіків з анатомічними вадами (p<0,01);

<sup>3</sup> – статистично достовірна різниця між групою чоловіків з анатомічними вадами та чоловіками зі соматичною патологією (p<0,05);

<sup>4</sup> – статистично достовірна різниця між групою чоловіків з анатомічними вадами та групою чоловіків з ідіопатичним непліддям (p<0,01);

<sup>5</sup> – статистично достовірна різниця між усіма обстежуваними групами включно з контрольною та з групою чоловіків, дружини яких мали ранні викидні (p<0,05).

значення у підборі методу екстракорпорального запліднення. Так, якщо у чоловіка є АСА локалізації Т та Тt, то їх наявність відображається у першу чергу на рухливості сперматозоїдів. Тому парам, у яких чоловік має подібну проблему, показане застосування методу інтрацитоплазматичного введення сперматозоїда в яйцеклітину. Якщо у чоловіка переважають сперматозоїди з локалізацією Н, то прогноз такої вагітності важко назвати оптимістичним. З огляду на типовий імунологічний механізм формування фіксованих на поверхні клітини імунних комплексів, прикріплення такого антитіла до мембрани сперматозоїда може призвести до руйнування його голівки включно із пошкодженням хромосомного матеріалу всередині. Запліднення яйцеклітини таким сперматозоїдом може закінчитися формуванням генетично неповноцінного зародка, який буде елімінований з організму жінки на ранніх термінах вагітності.

Визначення класу АСА також має велике значення. Так, АСА класу IgG здатні запускати цитотоксичні механізми і активувати комплемент. Але вони вважаються менш небезпечними. Крім того, вони можуть бути перехресно реагуючими, тобто первинно утворюватися проти подібних до спермальних антигенів на клітинах патогенних мікроорганізмів, а вже потім фіксуватися на мембрані сперматозоїда. Найбільше подібних до спермальних антигенних епітопів має *Chlamydia trachomatis*, тому паралельно з виявленням АСА потрібно обстежити чоловіка на наявність цієї інфекції. Натомість АСА класу IgA є більш небезпечними, в тому числі з огляду їх здатності активувати комплемент, який може розбити мембрану сперматозоїда. АСА, які виявляються у сім'яній рідині і сироватці периферичної крові, є вільними антитілами. Такі антитіла ослаблюють здатність сперматозоїдів до запліднення на різних етапах цього процесу. Вони негативно впливають на виживання та рухливість сперматозоїдів, їх penetрацію через шийковий слиз, взаємодію сперматозоїд-яйцеклітина та ранні етапи розвитку зародка. АСА класів IgA, IgG, IgM відрізняються між собою молекулярними масами, кількістю ділянок зв'язування антигена та ступенем взаємодії зі системою комплементу. Їстотним є походження імуноглобуліну (системне/місцеве). АСА, які синтезуються місцево, тобто у сім'яній рідині, мають більш суттєве значення в порівнянні з виявленими у сироватці. Якщо АСА проникають до яйцеводів або фолікулярної рідини, то мають безпосередній вплив на процес запліднення і розвиток зародка [7, 21].

Антиспермальні імунні реакції передують заплідненню і свою деструктивну роль проявляють вже в процесі сперматогенезу, спричинюючи олігозооспермію чи навіть азооспермію. Активація клітинного типу імунної відповіді або синтез цитотоксичних антитіл може призвести до знищення тканини яєчка та придатка. АСА, які зв'язуються зі сперматозоїдами, що виходять поза межі яєчка, можуть утруднювати їх подальше переміщення по сім'явиносних шляхах. Антитіла, локалізовані на головці сперматозоїдів, можуть гальмувати акросомальну реакцію, яка забезпечує penetрацію сперматозоїдів через прозору оболонку [8]. Вони можуть викликати пошкодження генетичного матеріалу всередині сперматозоїда та завмиранням зародків на ранніх термінах [2].

АСА у сироватці крові та/або сім'яній рідині виявляються у 5–12% неплодних пацієнтів з первинним автоімунним орхітом [12]. Присутність АСА підтвердили у пацієнтів із однією та двома бічними обструкціями сім'яних протоків та після вазектомії (особливо у тих, які мали олігозооспермію); у пацієнтів із хворобами, які передаються статевим шляхом; у пацієнтів із варикоцеле та навіть у пацієнтів із пошкодженням спинного мозку [9]. При вторинному орхіті, спричиненому системною автоімунною хворобою, АСА виявили у 7% чоловіків із хронічними ревматичними хворобами. Ці чоловіки не мали інших причин для формування АСА (варикоцеле, травма яєчок тощо) [22]. АСА виявили у 13–50% пацієнтів зі системним червоним вовчаком (СЧВ), але не підтвердили чіткого їх зв'язку з неплодністю. АСА класу IgG виявлено у більш ніж половини з 24 пацієнтів зі СЧВ, які корелювали з титрами антитіл до ДНК та активністю хвороби, що переконує у антитілозалежних механізмах пошкодження тканини. Були повідомлення про присутність АСА у 40% із 35 дорослих чоловіків та підлітків зі СЧВ. Проте, ці антитіла не асоціювалися з підвищенням відсотка патологічних форм сперматозоїдів, зниженням об'єму яєчок, змінами гормонального фону. Вони не змінювалися під дією терапії циклофосфамідом [23]. Залучення яєчок у процес пошкодження сполучної тканини є типовим прикладом формування васкуліту середньої важкості. Характерним прикладом є поліартеріїт. Вразливість яєчок чи орхіт мають місце у 2–18% пацієнтів з цією хворобою, а дослідження аутопсійного матеріалу показали навіть вищу цифру – 93%. Гострий епідидимо-орхіт діагностували у 4–31% пацієнтів із хворобою Бехчета та у 7–21% хворих на пурпур

Henoch-Schönlein. Є по два повідомлення щодо урологічних проблем у пацієнтів із поліхондритом та із ревматоїдним артритом [12].

Однією з найбільш частих причин чоловічого непліддя є варикоцеле. Ще донедавна питання стосовно ролі варикоцеле у виникненні чоловічого безпліддя дискутувалося. Сьогодні варикоцеле, в т.ч. його безсимптомні форми, вважають причиною непліддя за наявності патологічних змін еякуляту [24]. Дослідники варикоцеле допускають наявність аутоімунітету як причину пошкодження сперматогенезу. При варикоцеле характерними є застій в інтернальній спермальній вені, підвищена температура в каїтці, гіпоксія яєчок та ретроградний рух крові [25]. Венозний застій сприяє продовженню експозиції імунокомпетентних клітин до спермальних антигенів, що при імуносупресивному статусі в організмі може дати старт антиспермальному імунітету [26, 27].

У 50% неплідних чоловіків неможливо знайти причину непліддя, і тоді його ідентифікують як ідіопатичне. При ідіопатичному неплідді більшість змін у сперматозоїдах пов'язані з високим рівнем продуктів реактивного кисню, або кисневих радикалів (КР). Посилена продукція КР спричинює кисневе пошкодження клітинних ліпідів, білків та ДНК [28]. Це призводить до зменшення рухливості сперматозоїдів, пошкодження мембрани на акросомі та нездатності запліднити яйцеклітину [20, 29, 30]. Основним джерелом КР є активовані лейкоцити. Якщо є інфекція, синтез прозапальних цитокінів (IL-8 та TNF- $\alpha$ ) лейкоцитами зростає, що може посилити перекисне окислення ліпідів у мембранах сперматозоїдів до рівнів, які є загрозливими для запліднюючої здатності [31, 32]. У таких хворих дослідниками були виявлені АСА, фіксовані на мембранах сперматозоїдів. Ці комплекси здатні активувати метаболічні процеси у сперматозоїді, стимулювати продукцію вільних кисневих радикалів, порушувати акросомальну реакцію та пошкоджувати цілу клітину [7].

До найбільш поширених хвороб та станів, які супроводжуються розладами репродуктивної системи у чоловіків, є захворювання печінки, гемохроматоз, хронічна анемія, хронічна ниркова недостатність, захворювання спинного мозку, тиреотоксикоз, гіпотиреоз, синдром Кушинга, цукровий діабет, ожиріння, ВІЛ-інфекція, злоякісні пухлини, екстремальні стани (стрес). Зокрема, основними причинами зниження репродуктивної функції при злоякісних пухлинах є порушення сперматогенезу (олігоспермія), зни-

жений рівень тестостерону і підвищений – прогестерону, пролактину [33].

Точки зору на патогенез чоловічого непліддя є різними. Ще наприкінці 90-х років минулого століття назбиралося стільки різноманітної інформації про АСА та їх вплив на фертильність, що між різними науковими школами виникла майже конфліктна ситуація. Одними дослідниками були виявлені АСА, фіксовані на мембранах сперматозоїдів у частині голівки, які робили неможливою акросомальну реакцію. В інших виникла нова концепція антиспермального імунітету, яка ґрунтувалася на змінах у самих сперматозоїдах внаслідок їх зв'язування з антитілами [7]. Найстійкіша теорія чоловічого непліддя базується на антиспермальному аутоімунітеті, спричиненому зміною функцій В-лімфоцитів під впливом тестостерону та 17 $\beta$ -естрадіолу, що підвищує продукцію імуноглобулінів [34].

У даний час у науковій літературі постійно з'являються праці про нові методи лікування чоловічого непліддя. Ми повинні критично і обережно оцінювати як методику лікування, так і асоційовані з нею дослідження та обстеження, особливо якість їх виконання і інтерпретацію результатів.

Отримані нами результати корелюють з літературними даними, але є більш точними, бо визначають клас та топографію АСА. На основі наших даних, найбільш вагомий аутоімунний компонент у формуванні непліддя є у групах чоловіків зі соматичною патологією, ідіопатичним непліддям та соматично здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні.

#### **Висновки.**

1. Рівень АСА класів IgG та IgA у сільній рідині є найвищим у групах пацієнтів зі соматичною патологією, ідіопатичним непліддям та соматично здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні.

2. Рівень АСА класів IgG, IgA, IgM у сироватці крові є найвищим у групах пацієнтів з аутоімунними хворобами, ідіопатичним непліддям та соматично здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні.

3. Топографічна локалізація антитіл Тt виявлена у групах здорових чоловіків, чоловіків з аутоімунними хворобами та анатомічними вадами. У групах чоловіків зі соматичною патологією, ідіопатичним непліддям та соматично здорових чоловіків, дружини яких мали ранні викидні, діагностовано антитіла з топографічною локалізацією Н, Т та Тt.

## Список літератури

1. *European Association of Urology Guidelines on Male Infertility [Електронний ресурс] / Jungwirth A., Giwercman A., Tournaye H. [et al.] // The 2012 Update European Urology, 2012. – № of Pages 9. – Режим доступу до журналу: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2012.04.048>.*
2. Kurpisz M. *Molekularne podstawy interakcji pomiedzy plemnikiem a kotorka jajowa / M. Semczuk, M. Kurpisz // Andrologia. – Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2006. – 375 p.*
3. Kort H.I. *Impact of Body Mass Index Values on Sperm Quantity and Quality / H.I. Kort, J.B. Massey, C.W. Elsner [et al.] // Journal of Andrology. – 2006. – V. 27, N 3. – P. 450–452.*
4. Gravano D.M. *Promotion and prevention of autoimmune disease by CD 8+ T cells / D.M. Gravano, K.K. Hoyer // Journal of Autoimmunity. – 2013. – V. 45. – P. 68–79.*
5. Stefanini M. *Mechanisms of immune tolerance in the testis: influence of local factors / M. Stefanini, P. De Cesaris, A. Filippini // Sex Origin and Evolution. – U.Z.I. Mucchi, Modena. – 2006. – 306 p.*
6. Гаврилюк А.М. *Імунозалежні причини чоловічого непліддя / А.М. Гаврилюк, В.В. Чоп'як, А.Й. Наконечний [та ін.] // Профилактика и лечение заболеваний у мужчин. – 2010. – № 4/2 (32). – С.6–14.*
7. Гаврилюк А.М. *Роль антиспермальных антител у патогенезі імунозалежного чоловічого непліддя / А.М. Гаврилюк, В.В. Чоп'як, А.Й. Наконечний [та ін.] // Медицинские аспекты здоровья мужчины. – 2012. – № 2 (4). – С. 52–59.*
8. Kamieniczna M. *Immunobiologia nasienia / M. Semczuk, M. Kurpisz // Andrologia. – Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2006. – 375 p.*
9. Shibahara H. *Diagnosis and treatment of immunologically infertile women with sperm-immobilizing antibodies in their sera / H. Shibahara, J. Korryyama, Y. Shiraishi [et al.] // J. Reprod. Immunol. – 2009. – V. 83. – P. 139–144.*
10. Jarazo-Dietrich S. *Upregulation of nitric oxide synthase-nitric oxide system in the testis of rats undergoing autoimmune orchitis / S. Jarazo-Dietrich, P. Jacobo, C.V. Pürez [et al.] // Immunobiology. – 2012. – V. 17. – P. 778–787.*
11. Silva C.A. *Autoimmune orchitis / Y. Shoebfeld, M.E. Gershwin Diagnostic criteria in autoimmune diseases. – California: Springer Science. – 2008. – 290 p.*
12. Silva C.A. *Cutting-Edge Issues in Autoimmune Orchitis / C.A. Silva, M. Cocuzza, E.F. Borba, E. Bonfa // Clinic Rev. Allerg. Immunol. – 2012. – V. 42. – P. 256–263.*
13. Jacobo P. *Testicular autoimmunity / P. Jacobo, V.A. Guazzone, M.S. Theas // Autoimmun Rev. – 2011. – V. 10. – P. 201–204.*
14. Lombardo F. *Antisperm immunity in assisted reproduction / F. Lombardo, L. Gandini, A. Lenzi, F. Dondero // Journal of Reproductive Immunology. – 2004. – V. 62. – P. 101–109.*
15. Theas S. *Germ cell apoptosis in autoimmune orchitis: involvement of the Fas-FasL system / S. Theas, C. Rival, L. Lustig // Am. J. Reprod. Immunol. – 2003. – V. 50. – P. 166–176.*
16. Wu H. *Expression patterns and functions of toll-like receptors in mouse Sertoli cells / H. Wu, H. Wang, W. Xiong [et al.] // Endocrinology. – 2008. – V. 149. – P. 4402–4412.*
17. Domagala A. *Sperm antigens recognize by antisperm antidodies present in sera of infertile adults and prepubertal boys with testicular failure / A. Domagala, M. Kamieniczna, M. Kurpisz // International Journal of Andrology. – 2000. – V. 23. – P. 150–155.*
18. Domagala A. *Antisperm antidodies in prepubertal boys and their reactivity with antigenic differentiated spermatozoa / A. Domagala, M. Kamieniczna, M. Kurpisz // Am. J. Reprod. Immunol. – 1998. – V. 40. – P. 223–229.*
19. Fernandes M.F. *Human Exposure to endocrine-Disrupting Chemicals and Prenatal Risk Factors for hypospadias and cryptorchidism / M.F. Fernandes, B. Olmos, A. Granada, M.J. Lopez-Espinosa // Enviromental Health Perspectives. – 2007. – V. 115. – P. 8–14.*
20. Гаврилюк А.М. *Чоловіче непліддя – нові перспективи діагностики / А.М. Гаврилюк, М. Курпінш, Е. Віланд [та ін.] // Медицинские аспекты здоровья мужчины. – 2011. – № 2. – С. 10–21.*
21. Domagala A. *Antisperm antidodies in repubertal boys with cryptorchidism / A. Domagala, A. Havryluk, A. Nakonechnyj [et al.] // Archives of Andrology. – 2006. – Vol. 52. – P. 411–416.*
22. Shiraishi Y. *Incident od antisperm antibodies in males with systemic autoimmune diseases / Y. Shiraishi, H. Shibahara, J. Koriyama [et al.] // Am. J. Repros. Immunol. – 2009. – V. 61. – P. 183–189.*

23. Soares P.M. Gonad evaluation in male systemic lupus erythematosus / P.M. Soares, E.F. Borba, E. Bonfa [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2007. – V. 56. – P. 2352–2361.
24. Поворознюк М.В. Поширеність та основні причини безпліддя у чоловіків // *Медицинские аспекты здоровья мужчины.* – 2012. – № 3 (5). – С. 62–70.
25. Al-Daghistani H.I. Evaluation of Serum Testosterone, Progesterone, Seminal Antisperm Antibody, and Fructose Levels among Jordanian Males with a History of Infertility [Електронний ресурс] / H.I. Al-Daghistani, A.-W.R. Hamad, M. Abdel-Dayem [et al.] // *Biochemistry Research International.* – 2010. – Article ID 409640. – № of Pages 8. – Режим доступу до журналу: doi:10.1155/2010/409640.
26. Shiraishi K. Pathophysiology of varicocele in the male infertility in the era of assisted reproductive technology / K. Shiraishi, H. Matsuyama, H. Takihara // *International Journal of Urology.* – 2012. – V. 19. – P. 538–550.
27. Гаврилюк А.М. Вплив варикоцеле на чоловічу репродуктивну функцію / А.М. Гаврилюк, В.В. Чоп'як, І.Й. Кріль [та ін.] // *Медицинские аспекты здоровья мужчины.* – 2013. – № 4 (11). – С. 35–42.
28. Kim H.H. Flow cytometric characterization of apoptosis and chromatin damage in Spermatozoa / H.H. Kim, M. Funaro, S. Maxel [et al.] // *Reproductive BioMedicine.* – 2013. – V. 26. – P. 393–395.
29. Hsieh Y.-Y. Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility / Y.-Y. Hsieh, Ch.-Ch. Chang, Ch.-Sh. Lin // *Int. J. Biol. Sci.* – 2006. – V. 2. – № 1. – P. 23–29.
30. Tavilani H. Malondialdehyde levels in sperm and seminal plasma of astenozoospermic and its relationship with semen parameters / H. Tavilani, M. Doosti, H. Saeidi // *Clinica Chimica Acta.* – 2005. – V. 356. – № 1. – P. 199–203.
31. Martinez P. Sperm lipid peroxidation and pro-inflammatory cytokines / P. Martinez, F. Proverbio, M.I. Camejo // *Asian J. Androl.* – 2007. – V. 9. – № 1. – P. 102–107.
32. Гаврилюк А.М. Цитокінова регуляція чоловічої плідної функції / А.М. Гаврилюк, В.В. Чоп'як, І.Й. Кріль [та ін.] // *Медицинские аспекты здоровья мужчины.* – 2013. – № 1 (7). – С. 28–38.
33. Грачева О.О. Андропауза: современное состояние проблемы / О.О. Грачева, Е.О. Лутвак // *Медицинские аспекты здоровья мужчины.* – 2012. – № 3 (5). – С. 29–33.
34. Peeva E. Spotlight on the role of hormonal factors in the emergence of autoreactive B-lymphocytes / E. Peeva, M. Zouali // *Immunology Letters.* – 2005. – V. 101. – P. 123–124.

## Реферат

### АНТИСПЕРМАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА У МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

А.М. Гаврилюк, В.В. Чоп'як,  
И.А. Наконечный, М.З. Каменична,  
М.З. Курпиш

Бесплодие – это неспособность семейной пары достичь беременности на протяжении года открытой половой жизни. Согласно этому критерию, бесплодными являются около 13–18% пар. Мужской фактор бесплодия составляет больше половины этих пар. Причины мужского бесплодия постоянно исследуются, однако есть доказательства, что более 20–25% молодых мужчин имеют плохое качество сперматозоидов. Инфекция мужской половой системы и воспаление являются важными этиологическими факторами бесплодия. В связи с этим также имеет значение состояние иммунной системы и наличие антиспермальных антител. Но, используя рутинные диагностические

## Summary

### THE ANTISPERMAL ANTIBODIES IN DIFFERENT GROUPS OF INFERTILE MEN

A. Havrylyuk, V. Chopyak,  
Y. Nakonechnyy, M. Kamieniczna,  
M. Kurpysz

Infertility is defined as inability of couples to achieve pregnancy following the one year of unprotected intercourse. By this criterion, infertility affects 13–18% of couples. The male factor accounts for up to half of all the cases. The incidence of infertility in men is still difficult to establish, however current evidence suggests that up to 20–25% of young men have poor semen. Male reproductive tract infection and inflammation are important aetiological factors of infertility. The status of immune system and the presence of antisperm antibody are associated with infertility too. No cause of infertility can be found using routine diagnostic work-up in 10–15% of couples.



методы исследования, в 10–15% случаев все равно не удается выяснить причину бесплодия.

Цели нашей работы – определить уровни, классы и топографию антиспермальных антител у здоровых мужчин из контрольной группы и в группах мужчин с бесплодием различного генеза; подтвердить или отклонить иммунологическую причину бесплодия в группах мужчин с бесплодием различного генеза.

Было обследовано 100 мужчин (27 – здоровые мужчины из контрольной группы и 73 – бесплодные мужчины). Уровни, классы и топографию АСА определяли в семенной жидкости и сыворотке крови с помощью непрямого теста с полиакриламидными шариками, нагруженными анти-антиспермальными антителами.

Мы определили статистически значимые различия между контрольной группой и группами неплодных мужчин с соматической патологией, идиопатическим бесплодием и мужчин, жены которых имели ранние выкидыши, по уровням АСА классов IgG и I A в семенной плазме. Также мы определили статистически значимые различия между контрольной группой и группами бесплодных мужчин с аутоиммунными заболеваниями, идиопатическим бесплодием и мужчин, жены которых имели ранние выкидыши, по уровням АСА классов IgG, IgA и IgM в сыворотке крови. Результаты, полученные в группах здоровых мужчин и мужчин с анатомическими нарушениями, указали на топографическое размещение АСА, определенное как Tt. Результаты, полученные в группах мужчин с соматической патологией, идиопатическим бесплодием, и мужчин, жены которых имели ранние выкидыши, указали на топографические размещения АСА, определенные как H, T и Tt. Эти находки (особенно в семенной жидкости) могут указывать на повышенный риск формирования иммунонезависимого бесплодия у мужчин с соматической патологией, идиопатическим бесплодием и мужчин, жены которых имели ранние выкидыши.

**Ключевые слова:** иммунологически привилегированный статус мужских гонад, антиспермальные антитела в сыворотке крови, антиспермальные антитела в семенной жидкости, мужское бесплодие.

#### Адреса для листування

Гаврилюк Анна Мирославівна  
Тел.: (067) 757-39-43  
E-mail: ahavrylyuk@meta.ua

The aims of this work were – to detect the levels, classes and topography of antisperm antibodies in control group of healthy men and in different groups of infertile men; to prove or to abolish the immunological reason of infertility in different groups of infertile men.

Observations were carried out in a group of 100 men (27 – healthy controls and 73 – with infertility). The levels, classes and topography of antisperm antibodies were determined in seminal plasma and blood serum by using indirect immunobead test – IDIBT.

We have found statistically significant differences between control group and groups of infertile patients with somatic pathology, idiopathic infertility and men with early miscarriage in wives in levels of antisperm antibodies classes IgG and IgA in seminal plasma. Also we have found statistically significant differences between control group and groups of infertile patients with autoimmune diseases, idiopathic infertility and men with early miscarriage in wives in levels of antisperm antibodies classes IgG, IgA and IgM in blood serum. The results obtained in a control group, group of patients with autoimmune diseases and a group with anatomical disturbances indicated the topography of antisperm antibodies named Tt. The results obtained in a group of patients with somatic pathology, idiopathic infertility and men with early miscarriage in wives indicated the topography of antisperm antibodies named H, T and Tt. These findings (especially in semen plasma) may indicate a big concern of the risk of formation of immunodepending infertility in the males with somatic pathology, idiopathic infertility and men with early miscarriage in wives.

**Key words:** immunoprivileged status of male gonads, blood serum antisperm antibodies, seminal plasma antisperm antibodies, male infertility.