

УДК 57.089.32
DOI: 10.26456/vtbio341

ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СПЕРМОГРАММЫ У МУЖЧИН С АУТОИММУННЫМ ФАКТОРОМ БЕСПЛОДИЯ

М.Н. Петушков, А.А. Ткачева

Тверской государственной университет, Тверь

Проведена сравнительная оценка качества эякулята мужчин с высоким уровнем антиспермальных антител (АСАТ), с сомнительным иммунологическим статусом и с низким уровнем АСАТ. Учитывались время разжижения и объем эякулята, концентрация и общее количество сперматозоидов, категории их подвижности, морфологический индекс Крюгера и концентрация лейкоцитов в эякуляте. Дополнительно проанализирована результативность оплодотворения в супружеских парах с мужчинами различного иммунологического статуса в отношении АСАТ. Выявлено, что при повышении концентрации антиспермальных антител в эякуляте ухудшаются морфологический индекс Крюгера и общая подвижность сперматозоидов, увеличивается концентрация лейкоцитов и количество сперматозоидов, вступающих в реакции агглютинации и агрегации. Зависимости результативности оплодотворения от иммунологического статуса мужчин не выявлено.

Ключевые слова: бесплодие, вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), антиспермальные антитела (АСАТ), иммунологическое бесплодие, спермограмма.

Введение. Во всем мире число людей, страдающих бесплодием, увеличивается с каждым годом, и тенденции к уменьшению этого заболевания не наблюдается. По данным Всемирной организации здравоохранения, в настоящее время бесплодием страдают 17,5 % людей репродуктивного возраста, или каждый шестой человек в мире (ВОЗ, 2010). В связи с этим супружеские пары, не способные зачать ребенка самостоятельно, вынуждены обращаться за помощью в клиники, специализирующиеся на лечении бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) помогают парам с фертильной дисфункцией создать полноценную семью.

На результаты репродуктивных технологий влияет состояние как женской, так и мужской репродуктивной системы. Фертильность мужчины возможно определить с помощью специального лабораторного клинического исследования – спермограммы. Это исследование биологического материала мужчины (эякулята) необходимо для определения качественных, количественных и иммунологических характеристик семенной жидкости, которые могут

отражать возможные патологические изменения в репродуктивной системе мужчины (Корсак, 2019). Спермограмма включает в себя исследование большого спектра показателей, которые необходимо тщательно анализировать перед проведением процедуры ЭКО, так как один из нескольких показателей может стать решающим при выборе метода оплодотворения (Корнеев, 2018).

Достаточно часто причиной нарушения мужской репродуктивной функции являются антиспермальные антитела (АСАТ) (Божедомов, 2003). В научной литературе одной из основных причин образования АСАТ указывается нарушение баланса Т-хелперов и Т-супрессоров в органах репродуктивного тракта, следствием которого является повышенная чувствительность к аутоантигенам сперматозоидов (Божедомов, 2012). Для определения иммунологического бесплодия используют метод смешанной антиглобулиновой реакции «mixed antiglobulin reaction» или MAR-тест. Данный метод диагностики выявляет процент сперматозоидов, связанных с антиспермальными антителами (АСАТ). При большой концентрации сперматозоидов, контактирующих с АСАТ, можно подозревать наличие иммунологического бесплодия (Леваков, 2010).

Методика. Исследование проводилось на базе ООО «Клиника Парацельс» г. Тверь. В ходе исследования проанализированы показатели спермограммы 215 мужчин, обратившихся в клинику по поводу обследования репродуктивной функции. По результатам проведенного MAR-теста мужчины были разделены на три группы. Первую группу составили 36 мужчин с положительным результатом MAR-теста (более 50% АСАТ-связанных сперматозоидов) – далее АСАТ-положительная группа. Во вторую группу включены 81 мужчина, у которых по результатам MAR-теста доля АСАТ-связанных сперматозоидов составила от 10% до 50% (АСАТ-сомнительная группа). Третью группу (АСАТ-отрицательная) составили 97 мужчин с низким уровнем антиспермальных антител (менее 10% АСАТ-связанных сперматозоидов). Результативность оплодотворения определялась по количеству супружеских пар с наступившей после применения ВРТ беременностью.

При статистической обработке экспериментального материала, при помощи пакета анализа Microsoft Office Excel, были вычислены средняя арифметическая (M), ошибка средней арифметической ($\pm m$), коэффициент корреляции (r). Для оценки достоверности различий параметров использовались критерии Стьюдента и Фишера.

Результаты и обсуждение. В рамках проведенного исследования проведена сравнительная характеристика параметров спермограммы мужчин с различным иммунологическим статусом, в попытке выявить влияние АСАТ на ее показатели.

Количество мужчин с положительным тестом на АСАТ класса IgG в выборке составило 36. Среднее значение АСАТ-связанных сперматозоидов по результатам MAR-тест составило в данной группе $54,4 \pm 1,03$ (при верхнем значении референтного диапазона $\leq 50\%$).

Выявлено, что средние значения некоторых показателей спермограммы в группе с высоким уровнем АСАТ выходят за пределы референсных значений (табл. 1).

Таблица 1

Показатели спермограммы у мужчин различных иммунологических групп

Параметры	Группы мужчин			P _≤ 1-2	P _≤ 1-3	P _≤ 2-3
	АСАТ-положительная (n=36)	АСАТ-сомнительная (n=81)	АСАТ-отрицательная (n=97)			
	Группа 1	Группа 2	Группа 3			
Средний возраст, (лет)	$35,2 \pm 1,3$	$35,9 \pm 0,74$	$34,4 \pm 0,63$	-	-	-
MAR-test, (%)	$54,4 \pm 1,03$	$26,9 \pm 1,2$	$9,0 \pm 0,25$	0,01	0,01	0,01
Время разжижения, (мин)	$51,5 \pm 2,1$	$40,1 \pm 1,5$	$34,7 \pm 1,4$	0,01	0,01	0,01
Объем эякулята, (мл)	$3,6 \pm 0,4$	$2,8 \pm 0,2$	$3,6 \pm 1,5$	-	-	-
Лейкоциты, млн/мл	$1,4 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,04$	$0,2 \pm 0,02$	0,01	-	-
Характеристика сперматозоидов						
Общее количество, (млн)	$124,5 \pm 21,2$	$119,9 \pm 12,6$	$112,5 \pm 10,1$	-	-	-
Концентрация, (млн/мл)	$44,8 \pm 6,7$	$53,3 \pm 6,5$	$38,8 \pm 4,2$	-	-	-
Прогрессивно-подвижные (А), (%)	$15,2 \pm 1,8$	$21,3 \pm 1,3$	$27,6 \pm 1,1$	0,01	0,01	0,01
Прогрессивно-слабоподвижные (В), (%)	$10,4 \pm 0,6$	$11,2 \pm 0,5$	$12,9 \pm 0,4$	0,01	0,01	0,01
Общая подвижность (А+В), (%)	$25,6 \pm 2,3$	$33,5 \pm 1,5$	$40,5 \pm 1,3$	0,01	0,01	0,01
Непрогрессивно-подвижные, (С)	$9,9 \pm 0,6$	$10,4 \pm 0,3$	$10,7 \pm 0,4$	-	-	-
Неподвижные, (D)	$64,5 \pm 0,6$	$56,9 \pm 1,6$	$48,7 \pm 1,4$	0,01	0,01	0,01
Индекс Крюгера, (%)	$2,3 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,1$	$4,0 \pm 0,01$	0,01	0,01	0,01

Примечание: P_≤ – уровень статистической значимости по Стьюденту.

От стандартных показателей спермограммы отклоняются общая подвижность сперматозоидов (нормальное значение $\geq 32\%$), индекс

Крюгера (≥ 4 %), концентрация лейкоцитов (≤ 1 млн/мл). Средние значения таких показателей спермограммы, как время разжижения эякулята, его объем, концентрация сперматозоидов в эякуляте не имеют отклонений от нормативных значений. Высокие значения содержания антиспермальных антител в исследуемой группе приводят к увеличению содержания сперматозоидов, вступающих в реакции агглютинации и агрегации (табл. 2).

Таблица 2

Показатели агглютинации и агрегации у мужчин различных иммунологических групп

Показатель	Иммунологические группы			P \leq 1-2	P \leq 1-3	P \leq 2-3
	АСАТ- положительная	АСАТ- сомнительная	АСАТ- отрицательная			
	Группа 1	Группа 2	Группа 3			
Агглютинация, (%)	72 %	42 %	23 %	0,01	0,01	0,01
Агрегация, (%)	61 %	49 %	10 %	-	0,01	0,01

Примечание: P \leq – уровень статистической значимости по Фишеру

В группе мужчин из АСАТ-сомнительной группы средние значения большинства показателей спермограммы находятся в пределах нормы. Отклонения от референсных значений характерны только для индекса Крюгера. При этом время разжижения, концентрация лейкоцитов и доля неподвижных сперматозоидов были меньше, а общая подвижность сперматозоидов и индекс Крюгера больше, чем в группе мужчин с положительным АСАТ-статусом (табл. 1, 2).

Средние значения всех показателей спермограммы у мужчин из АСАТ-отрицательной группы соответствовали норме. При этом время разжижения и доля неподвижных сперматозоидов были меньше, а общая подвижность сперматозоидов и индекс Крюгера больше, чем в группе мужчин с положительным и сомнительным АСАТ-статусом. (табл. 1, 2).

Аналогичные исследования (Божедомов, 2000) также показали снижение количества прогрессивно-подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов, а также увеличение концентрации лейкоцитов в эякуляте мужчин, с высоким уровнем антиспермальных антител. Однако взаимосвязи концентрации АСАТ в эякуляте и доли сперматозоидов, вступающих в агглютинацию, в данном исследовании выявлено не было.

Ухудшение подвижности сперматозоидов в группе мужчин с положительным АСАТ-статусом может быть обусловлено рядом причин. Антиспермальные антитела в большой концентрации атакуют мембрану сперматозоидов, создавая препятствия к нормальному их передвижению. Чаще всего атаке АСАТ подвержена головка сперматозоида, которая отвечает за прямое поступательное передвижение (Никифоров, 2017). Также воздействие АСАТ на поверхность сперматозоидов ухудшают сопротивляемость оболочки к агглютинации и агрегации путем изменения электрического потенциала в мембране, в следствие чего, можно наблюдать склеивание отдельных или групп сперматозоидов друг с другом или к другим структурам эякулята. В связи с этим, время разжижения эякулята увеличивается. Ухудшение показателя морфологической оценки сперматозоидов, вероятно, связано с негативным влиянием АСАТ на процессы сперматогенеза, в связи с чем могут формироваться аномальные формы сперматозоидов (Камалов, 2017).

В результате статистического анализа данных было обнаружена корреляция между концентрацией АСАТ и временем разжижения эякулята ($r = 0,39$ при $P \leq 0,01$), содержанием прогрессивно-подвижных ($r = -0,37$ при $P \leq 0,01$), неподвижных ($r = 0,39$ при $P \leq 0,01$) прогрессивно-слабоподвижных ($r = 0,25$ при $P \leq 0,01$) сперматозоидов, общей подвижностью сперматозоидов ($r = -0,4$ при $P \leq 0,01$), концентрацией лейкоцитов ($r = 0,22$ при $P \leq 0,01$), индексом Крюгера ($r = -0,46$ при $P \leq 0,01$), агглютинацией ($r = 0,35$ при $P \leq 0,01$) и агрегацией ($r = 0,44$ при $P \leq 0,01$) сперматозоидов.

Дополнительно был проведен индивидуальный анализ соответствия показателей спермограммы нормативным значениям. Выявлено, что в группе мужчин с высоким уровнем АСАТ значительно чаще отмечаются отклонения от нормы таким показателей спермограммы как общая подвижность сперматозоидов, индекс Крюгера и концентрация лейкоцитов в эякуляте (рис. 1).

В ходе исследования были проанализированы исходы оплодотворения в супружеских парах с мужчинами каждой из групп. В клинику за процедурой искусственного оплодотворения обратились 9 семейных пар с мужчинами из АСАТ-положительной группы, 27 семейных пар с мужчинами из АСАТ-сомнительной группы и 30 семейных пар с мужчинами из АСАТ-отрицательной группы. Процент свежих переносов эмбрионов в АСАТ-положительной группе составил 77,6 %, в АСАТ-сомнительной – 85,2 %, в АСАТ-отрицательной – 80 %. Доля семейных пар с наступившей беременностью в АСАТ-положительной группе составила 55,5 %, в АСАТ-сомнительной – 51,8 %, в АСАТ-отрицательной – 56,6 % (рис. 2). Таким образом не

выявлено зависимости эффективность использования ВРТ от уровня АСАТ.

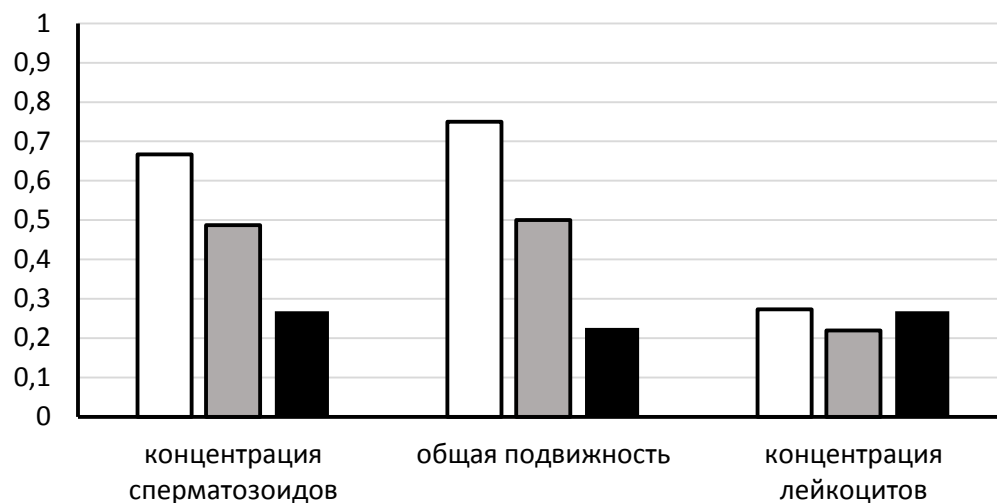


Рис. 1. Соотношение мужчин с отклоняющимися от нормативных значений показателями спермограммы: белые столбцы – АСАТ-положительная группа, серые столбцы – АСАТ-сомнительная группа, черные столбцы – АСАТ-отрицательная группа

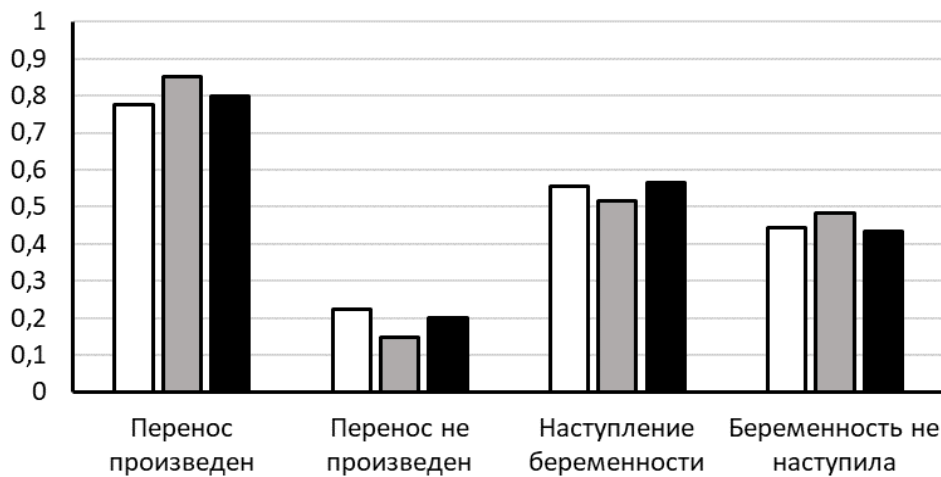


Рис. 2. Результативность оплодотворения в семейных парах с мужчинами различного иммунологического статуса: белые столбцы – АСАТ-положительная группа, серые столбцы – АСАТ-сомнительная группа, черные столбцы – АСАТ-отрицательная группа

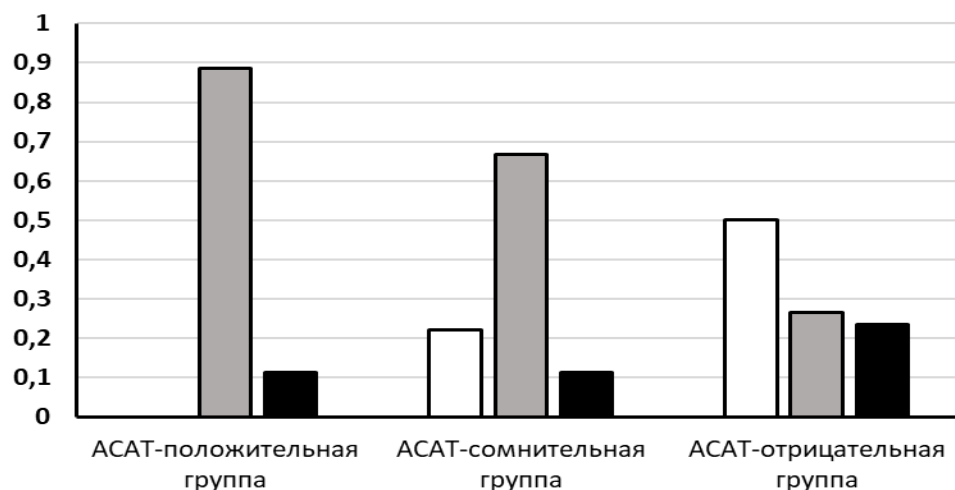


Рис. 3. Соотношение методов оплодотворения, используемых в супружеских парах с мужчинами различного иммунологического статуса: белые столбцы – метод ЭКО, серые столбцы – метод ИКСИ, черные столбцы – СПЛИТ

Известно, что эффективность оплодотворения сильно зависит от применяемого при ВРТ метода оплодотворения. На рисунке 3 показано соотношение методов оплодотворения в супружеских парах с мужчинами каждой из иммунологических групп. В АСАТ-положительной группе в основном использовался метод ИКСИ (88,7 %), а также СПЛИТ (11,3 %). Метод ЭКО без дополнительного ИКСИ в данной группе не применялся. В группе мужчин из АСАТ-сомнительной группы метод ИКСИ применялся в 66,7 % случаев, ЭКО – в 22,1 % случаев и СПЛИТ в 11,2 %. В АСАТ-отрицательной группе, напротив, больший процент оплодотворений приходился на метод ЭКО – 50 %. Метод ИКСИ был использован в 26,5 % случаев, СПЛИТ в 23,5 %.

Снижение качества эякулята у мужчин вынуждает использовать методы оплодотворения с тщательным морфологическим отбором и подготовкой сперматозоидов, такого как ИКСИ. Таким образом, эффективность применения методов ВРТ в большей степени зависит не от качества эякулята, а от применяемого метода оплодотворения.

Заключение. На основании проведенного нами исследования можно заключить, что с увеличением концентрации АСАТ в эякуляте снижаются такие показатели спермограммы как подвижность сперматозоидов, их морфологическое качество (индекс Крюгера) и повышаются – концентрация лейкоцитов в эякуляте, время его разжижения, а также чаще наблюдается агглютинация и агрегация сперматозоидов. Значительных различий в исходах оплодотворения

среди групп выявлено не было в связи с преимущественным использованием метода ИКСИ в супружеских парах с мужчинами из АСАТ-положительной и АСАТ-сомнительной групп, где необходим более тщательный отбор сперматозоидов для оплодотворения.

Обнаружение отклонений в вышеупомянутых параметрах спермограммы, может служить основанием для проведения дополнительного анализа на АСАТ для выявления иммунологического бесплодия и назначения метода ИКСИ, что может увеличивать положительный исход применения ЭКО.

Список литературы

- Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека*: пер. с англ. Н.П. Макарова. 2012. М.: Капитал принт. 291 с.
- Божедомов В.А. 2003. Лабораторная диагностика иммунного мужского бесплодия // *Новости прикладной иммунологии и аллергологии*. №7. С. 7-9.
- Божедомов В.А., Николаева М.А., Спорши Е.А., Рохликов И.М. 2012. Этиопатогенез аутоиммунных реакций против сперматозоидов // *Андрология и генитальная хирургия*. №. 4. С. 45-53.
- Камалов А.А., Охоботов Д.А. 2017. Изменения уровня иммуноглобулинов (антиспермальных антител классов а и g) у пациентов с инфертильностью на фоне терапии проспериоматогенным биостимулятором // *Медицинский совет*. №. 13. С. 144-149.
- Корнеев И.А. 2018. Вспомогательные репродуктивные технологии у мужчин: показания к применению, рекомендации по обследованию и подготовке к лечению // *Репродуктивная медицина*. №. 2. С. 43-47
- Корсак В.С. 2019. *Руководство по клинической эмбриологии*. М.: Специальное издательство медицинских книг. 224 с.
- Леваков С.А., Бугрова Т.И., Кедрова А.Г., Павлова С.А. 2010. Современный взгляд на бесплодный брак // *Клиническая практика*. №. 3. С. 92-97.
- Никифоров О.А., Авраменко Н.В., Михайлов В.В. 2017. Антиспермальные антитела как фактор мужского бесплодия. Актуальность, современные подходы к диагностике и лечению // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. № 2. С. 230-235.

PECULIARITIES OF SPERMOGRAM PARAMETERS IN MEN WITH AUTOIMMUNE FACTOR INFERTILITY

M.N. Petushkov, A.A. Tkacheva
Tver State University, Tver

We undertook the comparative evaluation of the ejaculate quality from men with high levels of antisperm antibodies (ASAT), questionable immunologic status, and low levels of ASAT. Evaluation procedure accounted the jaculate liquefaction time and volume, concentration and total number of

spermatozoa, sperm motility categories, Krueger morphological index and leukocyte concentration in ejaculate. In addition, we analyzed the fertilization efficiency in couples with men of different immunological status with respect to ASAT. It has been revealed that the Krueger morphological index and total sperm motility deteriorate with increasing concentration of ASAT in the ejaculate, while the concentration of leukocytes and the number of spermatozoa engaging in agglutination and aggregation reactions increase. No connection of fertilization efficiency to the immunological status of men was found.

Keywords: *infertility assisted reproductive technologies (ART), antisperm antibodies (ASAT), immunologic infertility, spermogram.*

Об авторах:

ПЕТУШКОВ Михаил Николаевич – кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии и физиологии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: bio.biology@tversu.ru

ТКАЧЕВА Анна Андреевна – магистрант биологического факультета по направлению «Медико-биологические науки», ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: medbio@tversu.ru.

Петушков М.Н. Особенности показателей спермограммы у мужчин с аутоиммунным фактором бесплодия / М.Н. Петушков, А.А. Ткачева // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2024. № 4(73). С. 16-24.

Дата поступления рукописи в редакцию: 12.11.23

Дата подписания рукописи в печать: 01.03.24