

MAR-тест та показники сперміологічного дослідження

К. А. Владиченко¹, О. С. Федорук¹, В. О. Юзько², А. В. Андрієць²

¹Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

²Медичний центр лікування безпліддя, м. Чернівці

Антиспермальні антитіла виявляють від 3% до 25% випадків у чоловіків та жінок із безпліддям. Також їх може бути діагностовано в 1–10% здорових фертильних чоловіків. Наявність високого титру антиспермальних антитіл – один із факторів чоловічого безпліддя, який може мати прихований перебіг, тобто не викликати симптомів та погіршення загальних показників спермограми.

Мета дослідження: проведення аналізу результатів сперміологічного дослідження у чоловіків з наявністю антиспермальних антитіл, які виявлено за допомогою MAR-тесту.

Матеріали та методи. На базі Медичного центру лікування безпліддя м. Чернівці проведено ретроспективний аналіз результатів обстеження 555 чоловіків. Спермограми досліджувалися згідно з рекомендаціями ВООЗ 2000 р., за допомогою інвертованого мікроскопа Olympus CKX41 у камері Маклера. Визначення відсотка сперматозоїдів, які вкриті атиспермальними антитілами, проводили за допомогою MAR-тесту (MAR-test, MAR-mixed antiglobulin reaction).

Результати. Якщо підрахувати відсоток пацієнтів, у яких можна припустити зв'язок наявності антиспермальних антитіл із перенесеними оперативними втручаннями, інфекціями статевої системи та обтяженим алергологічним анамнезом, то ми отримуємо лише 48,3% випадків. З'ясовано, що більшість змін показників спермограм корелює з відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgG. Ці дані свідчать про те, що збільшення рівня IgG відіграє важливу роль у розвитку патоспермії. Виявлено негативний середньої сили кореляційний зв'язок між відсотком сперматозоїдів категорії А та відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgG.

Персистенція IgG у спермі супроводжується вірогідним зниженням морфологічної якості сперматозоїдів.

Заключення. У 52% пацієнтів не вдалося встановити етіологічний фактор наявності Ig в еякуляті. З'ясовано, що більшість змін показників спермограм корелює з відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgG. Визначено, що підвищення рівня IgA та IgG призводить до вірогідного збільшення відсотків патологічних форм та зменшення рухомості сперматозоїдів. За наявності 30% сперматозоїдів, які вкрито IgG, з вірогідністю 95% у пацієнтів в еякуляті буде 100% патологічних форм сперматозоїдів.

Ключові слова: MAR-тест, чоловіче безпліддя, діагностика, спермограма.

MAR-test and spermological research indices

К.А. Владиченко, О.С. Федорук, В.О. Юзько, А.В. Андриєць

Antisperm antibodies are detected in 3% to 25% of cases in men and women diagnosed with infertility. They can also be diagnosed in 1–10% of healthy fertile men. The presence of a high titer of AST is one of the factors of male infertility, which can be «hidden», i. e. not cause symptoms and deterioration of the overall spermogram.

The objective: to analyze the results of sperm testing in men with antisperm antibodies, which were detected by MAR-test.

Material and methods. A retrospective analysis of the examination results of 555 men was conducted on the basis of the Medical Center for Infertility Treatment in Chernivtsi. Spermograms were examined according to WHO recommendations in 2000, using an inverted microscope Olympus CKX41 in a Broker chamber. Determination of the percentage of sperm coated with antisperm antibodies was performed using the MAR-test (MAR-test, MAR-mixed antiglobulin reaction).

Results. If we calculate the percentage of patients in whom we assume the connection between the presence of antisperm antibodies and undertaken surgery, genital infections and allergy history, we get only 48.3% of cases. It has been found that most changes in sperm counts correlate with the percentage of sperm that are coated with IgG. These data indicate that increased IgG levels play an important role in the development of pathospermia. A negative medium-strength correlation was found between the percentage of Category A sperm and the percentage of IgG-coated sperm.

Persistence of IgG in semen is accompanied by a probable decrease in the morphological quality of sperm.

Conclusion. In 52% of patients it was not possible to establish the etiological factor for the presence of Ig in the ejaculate. It has been found that most changes in sperm counts correlate with the percentage of sperm that are coated with IgG. It has been determined that an increase in the level of IgA and IgG leads to a probable increase in the percentage of pathological sperm forms and decrease in sperm motility. In the presence of 30% of sperm that are coated with IgG, with a probability of 95%, the ejaculate of patients will have 100% of pathological forms of sperm.

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

MAR-тест и показатели спермиологического исследования

К.А. Владиченко, А.С. Федорук, В.А. Юзько, А.В. Андриец

Антиспермальные антитела обнаруживают от 3% до 25% случаев у мужчин и женщин с диагнозом бесплодия. Также они могут быть диагностированы у 1–10% здоровых фертильных мужчин. Наличие высокого титра антиспермальных антител – один из факторов мужского бесплодия, у которого может быть скрытое течение, то есть не вызывать симптомов и ухудшения общих показателей спермограммы.

Цель исследования: проведение анализа результатов спермиологического исследования у мужчин с наличием антиспермальных антител, выявленных с помощью MAP-теста.

Материалы и методы. На базе Медицинского центра лечения бесплодия г. Черновцы проведен ретроспективный анализ результатов обследования 555 мужчин. Спермограммы исследовались согласно рекомендациям ВООЗ 2000 г., с помощью инвертированного микроскопа Olympus CKX41 в камере Маклера. Определение процента сперматозоидов, покрытых атиспермальными антителами, проводили с помощью MAP-теста (MAR-test, MAR-mixed antiglobulin reaction).

Результаты. Если подсчитать процент пациентов, у которых можно предположить связь наличия антиспермальных антител с перенесенными оперативными вмешательствами, инфекциями половой системы и отягощенным аллергологическим анамнезом, то мы получим лишь 48,3% случаев. Выяснено, что большинство изменений в показателях спермограмм коррелирует с процентом сперматозоидов, которые покрыты IgG. Эти данные указывают на то, что увеличение уровня IgG играет важную роль в развитии патоспермии. Выявлена негативная средней силы корреляционная связь между процентом сперматозоидов категории А и процентом сперматозоидов, которые покрыты IgG.

Персистенция IgG в сперме сопровождается достоверным снижением морфологического качества сперматозоидов.

Заключение. У 52% пациентов не удалось установить этиологический фактор наличия Ig в эякуляте. Выяснено, что большинство изменений показателей спермограмм коррелирует с процентом сперматозоидов, которые покрыты IgG. Определено, что повышение уровня IgA и IgG приводит к достоверному увеличению процентов патологических форм и уменьшению подвижности сперматозоидов. При наличии 30% сперматозоидов, которые покрыты IgG, с вероятностью 95% у пациентов в эякуляте будет 100% патологических форм сперматозоидов.

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

У нормі клітини, які беруть участь у сперматогенезі, відокремлено від імунокомпетентних клітин гематотестикулярним бар'єром. Продукція сперматозоїдів починається в 11–13 років, коли вже сформовано імунну систему. Тому пошкодження гематотестикулярного бар'єра може викликати імунну відповідь на клітини герміногенного епітелію та сперматозоїди з виробленням антиспермальних антитіл. Така ситуація можлива внаслідок відсутності антигенів HLA-комплексу на мембрані сперматогенних клітин та зрілих сперматозоїдів [1].

Антиспермальні антитіла (АСАТ) виявляють у чоловіків та жінок із діагнозом безпліддя (3–25% випадків). Також їх може бути діагностовано в 1–10% здорових фертильних чоловіків [2]. Наявність високого титру АСАТ – один із факторів чоловічого безпліддя, який може перебігати «приховано», тобто не викликати симптомів та погіршення загальних показників спермограми. Встановлено етіологічний зв'язок вироблення АСАТ із запальними захворюваннями статевої системи, травмами яєчок, перенесеною двобічною вазорезекцією, системними захворюваннями, варикоцеле тощо [3]. Патогенетична дія АСАТ проявляється порушенням акросомальної реакції та дозріванням сперматозоїдів, аглютинацією, збільшенням в'язкості сперми, зростанням рівня оксидативного стресу та фрагментації ДНК сперматозоїдів. Наявність IgA та IgG на поверхні сперматозоїдів може ініціювати лейкоцитоспермію та активацію фагоцитозу цих сперматозоїдів. У нормі фагоцитоз – це природний механізм для знищення «старих» або надлишкової кількості сперматозоїдів, що при патології та його надмірній активації може призводити до значного зниження фертильного потенціалу чоловіка [4–5].

У літературі наведені дані про негативний вплив АСАТ на ембріогенез, імплантацію ембріона, перебіг вагітності та на можливість запліднення яйцеклітини як *in vivo*, так і *in vitro* [6]. Автори припускають, що реакція на антигени сперматозоїдів націлює імунну систему жінки на антигени чоловіка, які містяться в ембріоні [7].

Водночас організм має декілька ланок, які в нормі забезпечують імуносупресивний ефект та попереджають аутоімунне пошкодження сперматозоїдів. Клітини Сертолі виробляють білок CD-95, який викликає апоп-

тоз лейкоцитів у паренхімі яєчка. Відомо, що андрогенні стероїдні гормони зменшують силу як місцевої, так і загальної імунної відповіді. У сім'яній плазмі є компоненти, які проявляють імуносупресивний ефект: простагландини, трансформуючий фактор росту β [4].

До імунологічних причин розвитку патології репродуктивної системи чоловіків належить вироблення антитіл до гормонів та нейротрансмітерів, які регулюють функції статевої системи. Дослідження свідчать про можливість вироблення автоантитіл до фолікулоstimулювального гормону, лютеїнізуючого гормону, естрадіолу, прогестерону, хоріонічного людського гонадотропіну, ендорфінів та серотоніну [5]. Тому імунологічний контроль за статевою системою (як у нормі, так і за наявності патологічних процесів) відіграє важливу роль. Дані про усі ланки регуляції імунологічного контролю остаточно не з'ясовано, тому ці процеси потребують подальшого вивчення.

Мета дослідження: аналіз результатів сперміологічного дослідження у чоловіків з наявністю антиспермальних антитіл, які виявлено за допомогою MAP-тесту.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

На базі Медичного центру лікування безпліддя м. Чернівців проведено ретроспективний аналіз результатів обстеження 555 чоловіків. Спермограми досліджувалися згідно з рекомендаціями ВООЗ (2000 р.) за допомогою інвертованого микроскопа Olympus CKX41 у камері Маклера. Визначення відсотка сперматозоїдів, які вкриті атиспермальними антитілами, проводили за допомогою MAP-тесту (MAR-test, MAR-mixed antiglobulin reaction). Для цього було використано набір для визначення антиспермальних антитіл IgG та IgM «SpermMarIgGTest», «FertiProN.V» (виробництва Бельгії).

Критеріями виключення пацієнтів із дослідження була азооспермія, або відсутність достатньої кількості рухомих сперматозоїдів, що робило неможливим проведення тесту на наявність антиспермальних антитіл.

Статистичне оброблення даних провадили за допомогою програми «STATISTICA» v.10.0 (Stat Soft Inc., США).

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ
ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Середній вік чоловіків, яких включено в дослідження, становив $32,48 \pm 7,96$ року. Середній вік планування першої вагітності має тенденцію до зростання в усьому світі. У всіх пацієнтів результати лабораторного обстеження на наявність інфекцій статеві системи були негативні, але в анамнезі у 198 (35,7%) чоловіків були позитивні тести на хламідіоз (31 пацієнт – 15,7%), мікоплазмоз (67 пацієнтів – 33,8%), трихомоназ (34 пацієнта – 17,2%), уреаплазмоз (66 пацієнтів – 33,3%). Перенесені інфекції статеві системи у цієї когорти пацієнтів розцінено як вірогідний етіологічний фактор продукції АСАТ. При цьому відмічена тенденція до переважання показників IgA над IgG.

Алергологічний анамнез було обтяжено у 23 (4,1%) пацієнтів: бронхіальна астма – 7 чоловіків, полінози – 16 пацієнтів.

Оперативні втручання на органах репродуктивної системи в анамнезі були у 47 (8,5%) чоловіків, а саме: одностороння орхопексія – 4, операція Іванісевиича зліва – 36, операція Мармара зліва – 2, з приводу гідроцеле – 5.

Якщо підрахувати відсоток пацієнтів, у яких можна припустити зв'язок наявності АСАТ із наведеними вище причинами, то ми отримуємо лише 48,3% випадків.

Для виявлення впливу АСАТ на показники сперміологічного дослідження застосовано кореляційний аналіз (табл. 1). З'ясовано, що більшість змін показни-

Таблиця 1

Кореляційний зв'язок між показниками спермограм (n=555)

Пари кореляційних зв'язків		Коефіцієнт кореляції, r	Достовірність кореляційного зв'язку, p
Відсоток сперматозоїдів категорії A	Відсоток сперматозоїдів, вкритих IgG	-0,45	p<0,05
Відсоток сперматозоїдів категорії D	Відсоток сперматозоїдів, вкритих IgG	0,43	p<0,05
Кількість лейкоцитів	Відсоток сперматозоїдів, вкритих IgA	0,49	p<0,05
Кількість лейкоцитів	Відсоток сперматозоїдів, вкритих IgG	0,49	p<0,05
Відсоток нормальних морфологічно сперматозоїдів	Відсоток сперматозоїдів, вкритих IgG	-0,46	p<0,05
Відсоток патологічних морфологічно сперматозоїдів	Відсоток сперматозоїдів, вкритих IgG	0,51	p<0,05

Примітка. n – Кількість спостережень

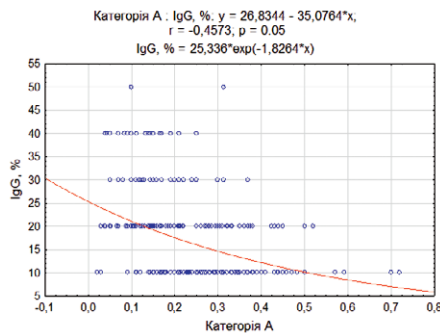


Рис. 1. Регресійний аналіз між відсотком сперматозоїдів категорії A та відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgG (n=555)

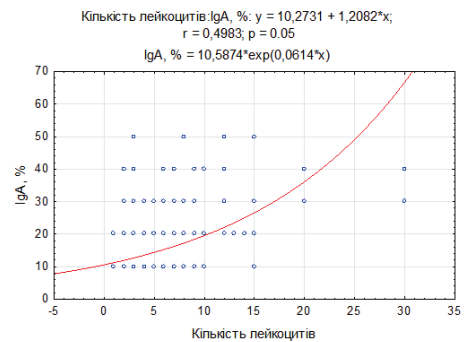


Рис. 2. Регресійний аналіз між кількістю лейкоцитів та відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgA (n=555)

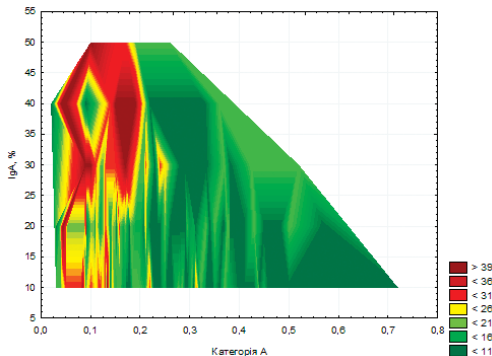


Рис. 3. Кореляційний аналіз між відсотком сперматозоїдів категорії A та відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgA (n=555)

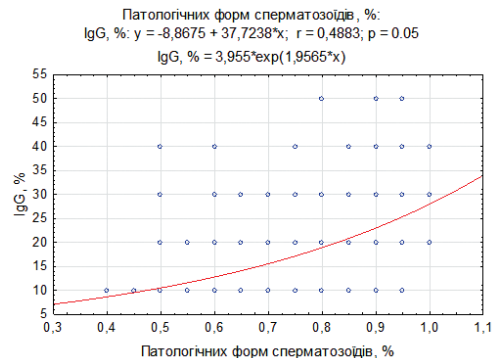


Рис. 4. Регресійний аналіз між відсотком патологічних форм та відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgG (n=555)

ків спермограм корелює з відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgG. Ці дані свідчать про те, що збільшення рівня IgG відіграє важливу роль у розвитку патоспермії.

Виявлено негативний середньої сили кореляційний зв'язок між відсотком сперматозоїдів категорії A та відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgG (рис. 1).

Кореляційний аналіз демонструє середньої сили вірогідний зв'язок між відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgG, та показниками рухомості сперматозоїдів категорії A, D (див. табл. 1).

Середньої сили прямий кореляційний зв'язок встановлено між кількістю лейкоцитів та відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgA (рис. 2).

При зростанні відсотка сперматозоїдів, які вкрито IgA, відзначається не тільки пряма кореляція з кількістю лейкоцитів, а й зниження відсотка сперматозоїдів категорії A (рис. 3).

Персистенція IgG у спермі супроводжується вірогідним зниженням морфологічної якості сперматозоїдів (див. табл. 1). Лінія тренду демонструє прогноз — за наявності 30% сперматозоїдів, які вкрито IgG, з

вірогідністю 95% у пацієнтів в еякуляті буде 100% патологічних форм сперматозоїдів (рис. 4).

На сьогоднішні референтні норми Ig у сперміологічному дослідженні залишаються дискусійними. Роль імунологічних процесів у чоловічому репродуктивному здоров'ї остаточно не з'ясовано, що потребує подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1. У 52% пацієнтів не вдалося встановити етіологічний фактор наявності Ig в еякуляті.
2. З'ясовано, що більшість змін показників спермограм корелює з відсотком сперматозоїдів, які вкрито IgG.
3. Визначено, що підвищення рівня IgA та IgG призводить до вірогідного збільшення відсотків патологічних форм та зменшення рухомості сперматозоїдів.
4. За наявності 30% сперматозоїдів, які вкрито IgG, з вірогідністю 95% у пацієнтів в еякуляті буде 100% патологічних форм сперматозоїдів.

Відомості про авторів

Владиченко Костянтин Анатолійович — Буковинський державний медичний університет, 58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2, тел.: (050) 664-31-66. *E-mail: vladychenko@meta.ua*
ORCID: 0000-0001-5523-8735

Федорук Олександр Степанович — Буковинський державний медичний університет, 58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2.

Юзько Вікторія Олександрівна — Медичний центр лікування безпліддя, 58000, м. Чернівці, вул. Трепка, 1а

Андрієць Анатолій Володимирович — Медичний центр лікування безпліддя, 58000, м. Чернівці, вул. Трепка, 1а

Information about the authors

Vladychenko Konstantin A. — Bukovynian State Medical University, 58000, Chernivtsi, Sq. Teatralna, 2, tel.: (050) 664-31-66, *E-mail: vladychenko@meta.ua*
ORCID: 0000-0001-5523-8735

Fedoruk Oleksandr S. — Bukovynian State Medical University, 58000, Chernivtsi, Sq. Teatralna, 2

Yuzko Victoria A. — Medical Center for Infertility Treatment, 58000, Chernivtsi, st. Trepko, 1a

Andriyets Anatolii V. — Medical Center for Infertility Treatment, 58000, Chernivtsi, st. Trepko, 1a

Сведения об авторах

Владыченко Константин Анатольевич — Буковинский государственный медицинский университет, 58000, г. Черновцы, пл. Театральная, 2, тел.: (050) 664-31-66. *E-mail: vladychenko@meta.ua*
ORCID: 0000-0001-5523-8735

Федорук Александр Степанович — Буковинский государственный медицинский университет, 58000, г. Черновцы, пл. Театральная, 2

Юзько Виктория Александровна — Медицинский центр лечения бесплодия, 58000, г. Черновцы, ул. Трепка, 1а

Андреец Анатолий Владимирович — Медицинский центр лечения бесплодия, 58000, г. Черновцы, ул. Трепка, 1а

ПОСИЛАННЯ

1. Bozhedomov V.A., Rohklykov I.M., Tretyakov A.A., Lipatova N.A., Vinogradov I.V., Nikonov E.L. Topical problems of care rendered to childless couples with male factor infertility: clinical, organizational, and methodical aspects. *Andrology and Genital Surgery*. 2013;14(4):7-16. (In Russ.) Available from: <https://doi.org/10.17650/2070-9781-2013-4-7-16>
2. Ibishev Kh.S., Mamedov E.A., Magomedov G.A. The immunological aspects of male infertility: 2016 – 2020 literature review. *Urology Herald*. 2020;8(3):97-102. (In Russ.) Available from: <https://doi.org/10.21886/2308-6424-2020-8-3-97-102>
3. Khan G-AN, Agarwal DK, Rabbani T. Antisperm antibody as a cause of immunological infertility in males. *Journal of Advance Researches in Biological Sciences*. 2012;4(1):1-4.
4. Cui D, Han G, Shang Y, Liu C, Xia L, Li L et al. Antisperm antibodies in infertile men and their effect on semen parameters: A systematic review and meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*. 2015;444:29-36.
5. Vickram AS, Dhama K, Chakraborty, Samad, Latheef, Sharun et al. Role of Antisperm Antibodies in Infertility, Pregnancy, and Potential for Contraceptive and Antifertility Vaccine Designs: Research Progress and Pioneering Vision. *Vaccines*. 2019;7(3):116.
6. Lombardo F, Gandini L, Lenzi A, Dondero F. Antisperm immunity in assisted reproduction. *Journal of Reproductive Immunology*. 2004;62(1-2):101-109.
7. Pochernikov D.G., Gerasimov A.M., Guseinova S.G., Naumov N.P. Elevated level of antisperm antibodies as a risk factor for unfavorable pregnancy outcome after use of assisted reproductive technology. *Andrology and Genital Surgery*. 2019;20(1):69-74. (In Russ.) Available from: <https://doi.org/10.17650/2070-9781-2019-20-1-69-74>

Стаття надійшла до редакції 07.07.2021. – Дата першого рішення 13.07.2021. – Стаття подана до друку 31.08.2021