

КРІОГЛОБУЛІНЕМІЯ ЯК УСЛАДНЮЮЧИЙ ФАКТОР КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ ФЕРТИЛЬНОСТІ У ЧОЛОВІКІВ (КЛІНІЧНІ СПОСТЕРЕЖЕННЯ)

Б.А. Герасун¹, Р.А. Коpecь², Р.Ю. Грицко¹, О.Б. Герасун¹

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

² Центр репродукції «Паренс—Україна», м. Львів

Вступ. Проблема чоловічого безпліддя є актуальною для всіх країн світу і потребує детального вивчення та розробки нових ефективних методів діагностики і терапії. Особливі складнощі, за даними літератури, зумовлені тим, що у 30–40% випадків не вдається встановити причини порушень сперматогенезу (ідіопатичне непліддя) [1].

Також у нашій лікарській практиці часто доводиться мати справу з випадками, коли усунення очевидного етіологічного чинника порушення фертильності не приводить до сподіваного її покращення, а саме захворювання перебігає атипово і важко піддається корекції.

Метою нашого раніше описаного дослідження [2–4] було встановлення етіології та патогенезу олігоастенотератозооспермії в пацієнтів, які після обстеження, згідно з рекомендаціями ВООЗ, розглядалися як «практично здорові люди». У цих дослідженнях було встановлено, що більше третини пацієнтів із ідіопатичною олігоастенотератозооспермією мають підвищений вміст у крові холодкових преципітуючих білків — кріоглобулінів. Зрозуміло, що в пацієнтів, віднесених до практично здорових, лікарі не виявили проявів синдрому кріоглобулінемії. Проте в частини з них все ж спостерігалось помірне охолодження кінцівок, акроціаноз та/або погіршення переносимості холоду. На жаль, на ці симптоми кріоглобулінемії більшість лікарів не звертають уваги. До того ж, як відомо, вміст кріоглобулінів у сироватці крові може визначатися і у зовні здорових людей.

Виходячи з того, що кріоглобуліни часто викликають васкуліти дрібних (рідше середніх, зрідка крупних) судин, які можуть призводити до порушення функцій різних органів та систем організму [3, 5–9], виникла тенденція до вивчення можливого зв'язку між кріоглобулінемією та олігоастенотератозооспермією. Для цього досліджували, чи впливає пригнічення синтезу кріоглобулінів на показники спермограми.

Матеріали і методи дослідження. Для пригнічення синтезу кріоглобулінів використовували методику внутрішньошкірної імунізації неінактивованими автолейкоцитами. Для цього лейкоцити виділяють відстоюванням гепаринізованої периферійної венозної крові хворого у термостаті при 37 °С протягом 90–140 хвилин. Після відстоювання плазму крові обережно, не допускаючи перемішування, відсмоктують, лейкоцити осаджують центрифугуванням при 200g протягом 7–8 хвилин. Автолейкоцити вводять шприцом внутрішньошкірно по 0,1 мл у 8–12 точок в шкіру спини. Детальніше ця методика була описана раніше [2–5, 10, 11].

У наших дослідженнях [2–4] було встановлено, що пригнічення синтезу кріоглобулінів позитивно впливає на продукцію сперматозоїдів. Так, у більшості пацієнтів із ідіопатичною олігоастенотератозооспермією, в яких імунізація автолейкоцитами призвела до значного зменшення концентрації кріоглобулінів, кількість сперматозоїдів зросла до 20 млн/мл та більше (85,71%). Одночасно покращувались їх прогресивна рухомість та відсоток нормальних форм [2, 3].

Висока ефективність даної методики застосовує на її ширше використання, особливо у тих випадках, коли стандартна корекція гормонального тла, антиоксидантна терапія, оперативна корекція варікоцеле і т. ін. є малорезультативними.

Результати та їх обговорення. Наводимо клінічний приклад, який є аналогічним тим, що спостерігалися у більшості пролікованих пацієнтів із ідіопатичною олігоастенотератозооспермією.

Хворий К., 41 рік, шлюб перший (8 років). Від вагітності не застерігалися, проте дітей не було. При детальному обстеженні, згідно з прийнятим алгоритмом та рекомендаціями ВООЗ, пацієнт був визнаний практично здоровим: крім порушень сперматогенезу, патологічних змін організму не було виявлено. Проте в нашому

обстеженні у сироватці крові були виявлені кріоглобуліни 3-го типу: 42 умовні одиниці (при нормі до 10 у. /о). Клінічних проявів, характерних для синдрому кріоглобулінемії, у пацієнта не було.

До імунізації концентрація сперматозоїдів становила 1 млн/мл, усього в еякуляті 2,4 млн.; нерухомість – 100%. Проте вже через 12 днів після внутрішньшкірної імунізації автолейкоцитами концентрація сперматозоїдів збільшилась до 111 млн/мл, усього в еякуляті 307,8 млн.; рухомих сперматозоїдів – 50% (46 та 4% категорій А і В, відповідно).

Описані раніше результати дослідження, як ми вже вказували, стосувалися лише пацієнтів із ідіопатичною олігоастенотератозооспермією.

Проте, в подальшому, враховуючи, що кріоглобулінемія може призводити до різноманітних клінічних проявів, ми почали визначати рівень кріоглобулінів у сироватці крові тих пацієнтів, в яких стандартна терапія не приводила до покращення. У більшості з них олігоастенотератозооспермія практично не піддавалась корекції, а в сімейному анамнезі були невдалі спроби допоміжних репродуктивних технологій та ранні викидні у дружин.

При цьому зменшення вмісту кріоглобулінів призводило до покращення сперматогенезу у пацієнтів із різними, навіть тяжкими, патологічними станами.

Наводимо клінічний приклад.

Пацієнт М., 37 років, обстежувався та лікувався з приводу безпліддя в одній із закордонних клінік. Був встановлений діагноз: Kallmann-Syndrom, азооспермія, аносія, розбіжна косоокість.

Каріотип 46XY; мікроделецій Y-хромосоми в регіоні AZF не виявлено, мутацій гена CFTR- не виявлено.

Була призначена замісна гормонотерапія: Хоріонічний Гонадотропін (ХГ) та Фолікуло-стимулюючий гормон (ФСГ) із поступовим збільшенням доз. Так, з листопада 2013 р. по липень 2014 р. пацієнт приймав ХГ у дозі 1500 ОД тричі на тиждень та ФСГ – по 150 ОД 3 рази на тиждень; у липні 2014 р. доза ФСГ була збільшена до 300 ОД 3р/т, а доза ХГ зросла з березня 2015 р. до 3000 ОД 3 рази на тиждень. Замісна гормонотерапія тривала з листопада 2013 р. до травня 2015 р. Проте жодного ефекту від цієї терапії не було.

У січні 2015 р. пацієнт звернувся до нашої клініки і в нього була діагностована кріоглобулінемія 2-го типу: вміст кріоглобулінів у сироватці крові становив 30 ум. од. (при нормі до 10 ум. од.).

Для пригнічення синтезу кріоглобулінемії 2 квітня 2015 р. ми провели внутрішньшкірну імунізацію неінактивованими автолейкоцитами. Через 2 тижні (16 квітня 2015 р.) після контролю рівня кріоглобулінів, який зменшився до 6 ум. од. (норма до 10 ум. од.), зробили аналіз еякуляту – в еякуляті нарешті з'явилися сперматозоїди: концентрація – 600 000/мл, загальною 2,5 млн., спермійв категорії А+В – 1,5 млн.

З квітня до липня 2015 р. пацієнту здійснено кілька заборів еякуляту з метою кріоконсервації сперми та застосування її у циклі Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI).

На цьому відрізку часу показники еякуляту залишалися приблизно в межах 200 000–300 000 /мл з наявністю спермії в категорії А+В близько 25%.

Отже, покращення сперматогенезу створило умови для проведення подружжю процедури штучного запліднення – ICSI. Так, було отримано 6 ембріонів, на стадії ранньої бластоцисти перенесено 2 ембріони.

Вагітність все ж не відбулась, а решта ембріонів дегенерувала і припинила розвиток. Незважаючи на це, наведений приклад свідчить про те, що кріоглобулінемія є суттєвим негативним фактором впливу на сперматогенез, бо зменшення рівня кріоглобулінів призвело до часткового покращення навіть у випадку найважчого порушення чоловічої фертильності.

Хворий С., 29 років, шлюб перший (5 років). Від вагітності не застерігалися, проте дітей від дружини (чи інших статевих партнерів) не було.

При зборі анамнезу встановлено, що пацієнт обстежувався в кількох медичних закладах Львова, де в нього було діагностовано важку олігоастенотератозооспермію. У аналізах еякуляту (за період від жовтня 2013 р. до вересня 2014 р.) концентрація сперматозоїдів становила менше 1 млн/мл і не більше 1,24 млн. в загальному; рухомість – від поодиноких рухомих до 100% нерухомих.

Рівень статевих гормонів станом на 01.11.13: Лютеїнізуючий гормон (ЛГ) – 2 мМо/мл, ФСГ – 1,3 мМо/мл, Тест. заг. – 11,34 нмоль/мл, естрадіол – 41,73 пг/мл.

У пацієнта діагностований автоімунний тиреоїдит нез'ясованого походження. Також пацієнт скаржився на часті артралгії, що посилювались у холодну пору року.

Показники щитоподібної залози на фоні специфічної терапії L- тироксином 15.04.14: тиреотропний гормон (ТШН) – 92,52 мкМО/мл (норма до 4,2), Пролактин – 16,22 нг/мл (норма 4,04–15,2); Thyrogperoxidase (ТРО) Antibodies – 276,2 МО/мл (норма до 34,0), антитіла до тирео-

глобуліну (АТТГ) – 293,80 МО/мл (норма – до 115 МО/мл). Слід зауважити, що, незважаючи на прийом L-тироксину (100 мг/д), спостерігалась тенденція до погіршення показників щитовидної залози: у червні 2014 р. вміст ТSH став >100 мкМО/мл, ТРО Antibodies – збільшились до 384,7 МО/мл; дещо виріс і вміст пролактину (16,59 нг/мл).

У вересні 2014 р. була діагностована кріоглобулінемія: вміст кріоглобулінів у сироватці крові становив 33 ум. од. (норма до 10. ум. од.). У зв'язку з цим 16.10.14. проведено внутрішньошкірну імунізацію неінактивованими автолейкоцитами. Через 30 днів після внутрішньошкірної імунізації автолейкоцитами (17.11.14) кріоглобуліни перестали визначатися, зменшився вміст ТРО Antibodies та АТТГ, а концентрація сперматозоїдів значно зроста – до 17 млн/мл, усього в еякуляті 98,6 млн.; 7% рухомих сперматозоїдів, категорій А+В і С – 4 та 3%, відповідно (до імунізації концентрація сперматозоїдів була менше 1 млн/мл, не більше 1,24 млн. в загальному; рухомість – від поодиноких рухомих до 100% нерухомих).

Пацієнту була запропонована селекція та кріоконсервація сперми для використання у циклі допоміжних репродуктивних технологій.

Отже, внутрішньошкірна імунізація автолейкоцитами позитивно вплинула на автоімунний процес: у пацієнта припинився синтез холодових преципітуючих білків – кріоглобулінів та частково зменшилась продукція антитіл до антигенів щитовидної залози. Внаслідок позитивного впливу на автоімунний процес (переважно на синтез кріоглобулінів) відбулось покращення сперматогенезу. На нашу думку, таке порушення сперматогенезу можна розглядати як імунологічне непліддя.

З наведених прикладів видно, що, у разі олігоастенотератозооспермії зумовленої, чи ускладненої кріоглобулінемією, внутрішньошкірна імунізація неінактивованими автолейкоцитами є високоефективним методом корекції фертильності сперми. Навіть при тяжких патологічних станах, якщо не відбувається нормалізація всіх показників сперматогенезу, імунізація все ж

призводить до збільшення концентрації і покращення рухомості та морфології спермій, що збільшує відсоток ефективності при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій.

Синтез кріоглобулінів, як відомо, є автоімунним процесом, наслідком якого є відкладання, переважно в судинах малого діаметра, преципітуючих холодових білків. Залежно від інтенсивності судинних уражень та їх локалізації можуть виникати різноманітні патологічні процеси, зокрема, ті, що, за нашими даними, призводять (або сприяють) до формування чоловічого безпліддя. Кріоглобулінемія може опосередковано негативно впливати на показники спермограми, проте теоретично можливий і прямий вплив на стан гематотестикулярного бар'єра, а також на морфологічні особливості та функціональну активність сперматозоїдів.

Ту олігоастенотератозооспермію, що зумовлена кріоглобулінемією, досі помилково вважають ідіопатичною, хоч її можна віднести до групи імунологічного непліддя.

У інших випадках, при наявних етіологічних чинниках порушення фертильності, кріоглобулінемія є імунологічним фактором, який ускладнює перебіг захворювання і суттєво погіршує ефективність лікування.

Висновки

Отже, хворих із порушеннями фертильності доцільно обстежувати на наявність кріоглобулінів у сироватці крові. Такий підхід варто включити до методичних рекомендацій/інструкцій при лікуванні безпліддя, оскільки зменшення вмісту кріоглобулінів за допомогою внутрішньошкірної імунізації неінактивованими автолейкоцитами позитивно впливає на сперматогенез і чоловічу фертильність.

Також слід зауважити, що раннє виявлення кріоглобулінемії у пацієнтів з патоспермією суттєво зменшує час та матеріальні витрати на лікування та реабілітацію, підвищує шанс на отримання якісних гамет, а, отже, і шанс на настання вагітності у партнерки у природному циклі з використанням допоміжних репродуктивних технологій.

Список літератури

1. WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. – WHO, 5-th ed. – Cambridge university press, 2010.
2. Gerasun B.A., Kopets R.A., Hrytsko R.Yu., Gerasun O.B. Correction of fertility disorders in patients with cryoglobulinemia // Central European Journal of Urology. – 2013. – V. 3. – P. 316–319.
3. Герасун Б.А., Конець Р.А. Кріоглобулінемія і олігоспермія // Здоров'я мужчини. – 2012. – № 4(43). – С. 52–54.

4. Герасун Б.А., Конець Р.А. Патент України на винахід 97461. Застосування способу вакцинації автолейкоцитами як способу лікування oligo- та астенозооспермії; опубл. 10.02.2012.
5. Чоп'як В.В., Господарський І.Я., Герасун Б.А. Клінічний алгоритм надання медичної допомоги хворим на поліклоновий (змішаний) криоглобулінемічний синдром – D 89.1. – Методичні рекомендації МОЗ України. – Київ, 2006.
6. Hrytsko R.Y., Herasun B.A. Administration of intradermal autoleukocyte immunization as a reduction method of cryoglobulin synthesis in patients with chronic hepatitis // *C. Journal of Hepatitis*. – 2016. – V. 2(1). – P. 8–12.
7. Holubovska O.A., Ashkurba A.V., Herasun O.B., Vorozhbyt O.V., Kopets R.A., Hrytsko R.Y., Herasun B.A. Intradermal Autoleukocyte Immunization-Personified Method of Cell Therapy // *Journal of Immunology and Vaccination*. – 2016. – V. 1. – P. 1–5.
8. Martyak L.A., Yeganeh M., Saab S. Hepatitis C and lymphoproliferative disorders from mixed cryoglobulinemia to non-Hodgkin's lymphoma // *Clinical Gastroenteral Hepatology*. – 2009. – V. 7. – P. 900–905.
9. Saadoun D., Reache-Rigon M., Thibault V. et al. Antiviral therapy for hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia vasculitis. A long-term follow up study // *Arthritis Rheumatism*. – 2006. – V. 54(11). – P. 3696–3706.
10. Zinchuk A., Holubovska O., Shkurba A., Hrytsko R., Vorozhbyt O., Richniak M., Herasun B. Original inhibition method of excessive synthesis of pro-inflammatory cytokine of tumour necrosis factor-alpha // *Central European Journal of Immunology*. – 2015. – V. 3. – P. 345–348.
11. Gerasun B.A. New method of inhibition of activity of tumor necrosis factor alpha in patients with psoriasis: New patents // *Recent. Pat. Endocr. Metab. Immune Drug. Discov*. – 2016. – V. 10(1). – P. 1–4.

Реферат

УГНЕТЕНИЕ СИНТЕЗА КРИОГЛОБУЛИНОВ КАК СПОСОБ ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО ВЛИЯНИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМОГРАММЫ (КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ)

Б.А. Герасун, Р.А. Конець,
Р.Ю. Грицко, А.Б. Герасун

Холодовые преципитирующие белки – криоглобулины повреждают разные сосуды и в зависимости от локализации поражений могут приводить к нарушению функций разных органов и систем организма. Следовательно, криоглобулинемия может негативно влиять и на состояние сперматогенеза, и потому процесс этот нуждается в детальном изучении.

В статье приведены клинические примеры, которые указывают на связь между криоглобулинемией и нарушением сперматогенеза, о чем свидетельствует улучшение спермограммы вследствие притеснения синтеза криоглобулинов методом внутрикожной иммунизации неинaktivированными автолейкоцитами. Лейкоциты выделяют отстаиванием гепаринизированной периферической венозной крови больного в термостате, при 37 °С лейкоциты осаждают центрифугированием. Автолейкоциты вводят по 0,1 мл в 8–12 точек в кожу спины.

Summary

INHIBITION OF CRYOGLOBULIN SYNTHESIS AS A METHOD OF POSITIVE INFLUENCE ON SPERMOGRAM INDICES (clinical observations)

B.A. Gerasun, R.A. Kopets,
R.Y. Hrytsko, O.B. Herasun

Cold-shock precipitating proteins – cryoglobulins damage various vessels and, depending on localization of damages, may lead to function disorder of various organs and body systems. Evidently, cryoglobulinemia may have a negative influence on reproductive system's condition, thus, this process requires detailed study.

Clinical examples, indicating connection between cryoglobulinemia and spermatogenesis impairment are presented in the article. The proof is improvement of spermogram due to inhibition of cryoglobulin synthesis by the method of intradermal immunization with inactivated autoleukocytes. Leukocytes are isolated by precipitation of a patient's heparinized peripheral venous blood in thermostat at 37°C for 90–140 minutes. After precipitation, blood plasma is aspirated, leukocytes are precipitated by centrifugation. Autoleukocytes are injected in the dose 0.1 ml into 8–12 points of the skin in the back.

Spermogram indices considerably improve due to inhibition of cryoglobulin synthesis in patients

Вследствие притеснения синтеза криоглобулинов у пациентов с идиопатической олигозооспермией значительно улучшаются показатели спермограммы. Однако и у мужчин с разными тяжелыми формами бесплодия устранения криоглобулинов в определенной степени положительно влияет на сперматогенез, который создает условия для проведения супругам процедуры искусственного оплодотворения.

Обследование на криоглобулинемию стоит включить в методические рекомендации/инструкции обследования пациентов с нарушением фертильности, потому что уменьшение содержания криоглобулинов с помощью внутрикожной иммунизации неинaktivированными автолейкоцитами положительно влияет на показатели спермограммы.

Ключевые слова: мужское бесплодие, спермограмма, криоглобулинемия, внутрикожная иммунизация автолейкоцитами.

Адреса для листування

Б.А. Герасун
E-mail: gerab@3g.ua

with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. However, we have determined that in men with other forms of infertility, including severe ones, presence of increased level of cryoglobulins significantly deteriorates prognosis considering successful correction of spermatogenesis impairment. Their elimination, in most cases, has a positive influence on spermatogenesis and makes additional conditions for efficacy improvement in treatment of infertility.

Examination for cryoglobulinemia should be included to methodical recommendations/instructions for examination of patients with impaired fertility, since reduction of cryoglobulin level by means of intradermal immunization with inactivated autoleukocytes has a positive influence on spermogram indices.

Keywords: male infertility, spermogram, cryoglobulinemia, intradermal autoleukocyte immunization.