

Криоглобулинемия и олигозооспермия

Б.А. Герасун¹, Р.А. Копец²

¹Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого

²Львовский областной центр репродуктивного здоровья населения

Изучена роль криоглобулинемии в развитии олигозооспермии. Установлена высокая частота смешанной криоглобулинемии у пациентов с олигозооспермией, показано, что успешное лечение криоглобулинемии методом внутривенной иммунизации аутолейкоцитами приводит к нормализации показателей спермограммы.

Ключевые слова: олигозооспермия, криоглобулинемия, внутривенная иммунизация аутолейкоцитами.

Криоглобулины – патологические белки сыворотки крови, обладающие аномальной способностью к преципитации при охлаждении и растворяющиеся при температуре 37 °С (обратимая преципитация); относятся к фракции гаммаглобулинов. Образуют комплексы с другими белками сыворотки крови и белками инфекционных агентов [4, 6, 7]. По классификации Grouet [11] выделяют три типа криоглобулинов. К первому относят криоглобулины, состоящие из моноклональных иммуноглобулинов одного класса, обычно М, реже G или A. Такой тип криоглобулинемии типичный для лимфопролиферативных заболеваний. Второй (2-й) и третий (3-й) типы криоглобулинов представлены иммуноглобулинами разных классов и потому получили название «смешанных» криоглобулинов (СКГ), на их долю приходится до 90% всех криоглобулинов.

Криоглобулинемия 2-го и 3-го типа связана с различными широко распространенными инфекционными и паразитарными болезнями, такими, как хронические вирусные гепатиты (особенно гепатит С), герпетические инфекции, в том числе цитомегаловирусная, токсоплазмоз и др. Криоглобулины выявляют и у больных с различными аутоиммунными процессами, ревматоидными артритами, периферическими нейропатиями, поражением печени, почек, болезнями крови. Вместе с тем у части больных не удается установить этиологический фактор криоглобулинемии (эссенциальная СКГ) [10, 12, 13].

Считается, что формирование СКГ у пациентов с инфекционными болезнями обусловлено длительной антигенной активацией В-лимфоцитов, следствием чего может явиться их пролиферация и продукция широкого спектра аутоантител, составляющих основу СКГ.

Важно и то, что холододовые преципитирующие белки могут появляться не только в результате непосредственного воздействия возбудителя инфекционной болезни на лимфопролиферативные процессы, но и как следствие воспалительного процесса и аутоиммунных осложнений хронических инфекций. Отложение криоглобулиновых иммунных комплексов в стенках сосудов, преимущественно мелких, в условиях активации системы комплемента приводит к развитию васкулитов [6, 10].

Таким образом, синдром криоглобулинемии является иммунозависимым (аутоиммунным) процессом. Классическим проявлением криоглобулинемии принято считать триаду Мельцера (кожная пурпура, артрит или артралгия, общая слабость) [14], однако криоглобулинемия характеризуется разнообразием симптоматики, так как может сопровождаться поражением различных органов и систем организма: часто поражаются кожа, слизистые оболочки, почки, печень,

нервная система, глаза, органы пищеварения. Различные варианты клинических проявлений синдрома криоглобулинемии связаны с особенностями и локализацией сосудистых поражений.

Частым проявлением криоглобулинемии (нередко единственным клинически выраженным) является плохая переносимость холода, однако наш клинический опыт свидетельствует о том, что врачи редко расспрашивают пациентов об их самочувствии в прохладную пору года.

Значительное содержание криоглобулинов в сыворотке крови может определяться и у внешне здоровых людей.

Теоретически состояния, которыми проявляется синдром криоглобулинемии, могут опосредованно вызывать нарушенные качества спермы, однако не исключается и прямое воздействие холододовых преципитирующих белков на состояние гематотестикулярного барьера, а также на морфологические особенности и функциональную активность сперматозоидов. Однако общепринятый алгоритм обследования мужчин с нарушением репродуктивной функции не предусматривает определения криоглобулинов даже в тех случаях, когда не удается установить причину измененной фертильности.

Именно потому целью нашего исследования было изучение возможной связи между криоглобулинемией и олигозооспермией. Для этого определяли частоту выявления криоглобулинов в сыворотке крови больных со стойким идиопатическим нарушением сперматогенеза, а также изучали, как влияет лечение криоглобулинемии на показатели спермограммы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 55 мужчин в возрасте от 26 до 35 лет с идиопатическими нарушениями параметров спермограммы, отнесенными по классификации ВОЗ к олиго- и астенозооспермии [15]. Все пациенты были предварительно обследованы в соответствии с рекомендациями ВОЗ, однако причины нарушений сперматогенеза не были установлены.

Пациенты с установленными или предполагаемыми причинами бесплодия (варикоцеле, крипторхизм, генетические аномалии, урогенитальные инфекции, другие формы экскреторного и секреторного бесплодия, аутоиммунные процессы, а также различные эндокринные нарушения, опосредованно приводящие к гипофертильности, и т.д.) были исключены из исследования. В исследование также не включали пациентов с ожирением, сахарным диабетом, туберкулезом, хроническими болезнями почек и печени (включая вирусные гепатиты В и С), с сердечно-сосудистой недостаточностью, страдающие алкоголизмом и наркоманией. Перечисленные состояния и болезни диагностировали в соответствии со стандартными подходами, предусматривающими клинический осмотр, биохимические и иммунологические исследования, инструментальные методы диагностики. При подозрении на инфекционные заболевания для выявления соответствующих антител и антигенов применяли серологические методы диагностики, в том числе иммуноферментный анализ, а для идентификации специфических нуклеиновых кислот использовали высокочувствительную полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени.

Следовательно, в исследование включали лишь практически здоровых мужчин, у которых единственной установленной патологией являлось стойкое нарушение сперматогенеза.

У всех пациентов, включенных в исследование, определяли криоглобулины в сыворотке крови методом спектрофотометрии.

Для обнаружения криоглобулинов кровь из периферической вены забирали предварительно нагретым шприцом и инкубировали при температуре 37 °С до образования сгустка. Часть отделившейся сыворотки разводили веронал-миналовым буфером (рН 8,6) в соотношении 1:10 и методом спектрофотометрии определяли осмотическую плотность раствора. Оставшуюся часть сыворотки инкубировали при температуре 4 °С в течение 7 дней, после чего ее также разводили в буфере и определяли оптическую плотность. Разницу в оптической плотности сыворотки до и после холодной инкубации принимали за показатель, отражающий содержание криоглобулинов в крови.

Типы криоглобулинов определяли методом гисторезистентных кривых, для чего дополнительно проверяли оптическую плотность исследуемой сыворотки крови в процессе холодной инкубации [10].

Пациенты с криоглобулинами в сыворотке крови подвергались безмедикаментозному методу лечения криоглобулинемии путем внутрикожной иммунизации аутолейкоцитами [1, 3, 10]. Для получения лейкоцитарной массы венозную кровь в объеме 30–50 мл (объем зависит от количества лейкоцитов в 1мл крови) набирали в теплый флакон с гепарином из расчета 50 ЕД гепарина на 10 мл крови, затем разливали по 10 мл в пробирки и под углом 45° инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 90–140 мин. Плазму крови осторожно, не допуская перемешивания, отсасывали, лейкоциты дважды отмывали в 5–10-кратном объеме 0,9% раствора натрия хлорида. Суспензию отмытых аутоклеток вводили внутривенно по 0,1 мл в 8–10 точек кожи спины (между лопатками) до образования «лимонной корочки».

Механизм лечебного действия внутрикожной иммунизации аутолейкоцитов описан ранее [1–3, 10].

Непосредственно перед внутрикожной иммунизацией аутолейкоцитами, а также через 10–15 дней, 1 и 3 мес после иммунизации у больных повторно определяли содержание криоглобулинов в сыворотке крови.

В эти же сроки (до и после иммунизации аутолейкоцитами) исследовали эякулят и определяли следующие показатели спермограммы: концентрацию сперматозидов, прогрессивную подвижность (%), нормальные формы (%) [8, 9]. Концентрацию сперматозидов и подвижность определяли с помощью камеры Маклер (Израиль). Исследование проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из 55 обследованных мужчин с идиопатической олиго- и астенозооспермией у 19 (34,55%) была выявлена криоглобулинемия (в контрольной группе, в которую вошли 50 мужчин доноров крови, криоглобулинемия диагностирована лишь в одном случае; 2%).

У большинства пациентов патологические холодовые белки относились ко 2-у (31,58%) и 3-у (63,16%) типам криоглобулинов (смешанная поликлональная криоглобулинемия); моноклональная криоглобулинемия (криоглобулины 1-го типа) диагностирована лишь у одного пациента из 19 (5,26%).

Таким образом, высокая частота криоглобулинемии у мужчин с идиопатическим нарушением сперматогенеза свидетельствует о связи синдрома криоглобулинемии с нарушением мужской фертильности.

Особо убедительно свидетельствует о патогенетической связи криоглобулинемии с мужским бесплодием то, что у больных, подвергшихся иммунизации аутолейкоцитами, наступало улучшение показателей сперматогенеза. Так, из 14 мужчин, ответивших на лечебную процедуру снижением концентрации патологических холодовых белков на 65–00%, у 12 (85,71%) количество сперматозидов возросло до 20 млн/мл и выше (таблица). У всех больных с увеличением количества сперматозидов возрастала прогрессивная подвижность и процент нормальных форм.

Приведенные в таблице данные свидетельствуют о том, что для части пациентов успешное лечение криоглобулинемии одновременно служит эффективным способом нормализации сперматогенеза. Это положение можно проиллюстрировать клиническим примером.

Больной К., 41 год, брак первый, длится 8 лет. От беременности не предохранялись, однако детей от жены (или других половых партнеров) не было. При детальном обследовании согласно рекомендациям ВОЗ признан практически здоровым – кроме нарушений сперматогенеза, патологических изменений организма не обнаружено. Однако при дополнительном сборе анамнеза было установлено, что больной любит тепло одеваться, в прохладном помещении общее состояние пациента ухудшается: развивается общая слабость, при незначительном охлаждении возникает чувство онемения в пальцах ног.

В сыворотке крови больного выявлены криоглобулины 3-го типа (28 условных единиц (усл.ед.), при норме до 10 усл.ед.) и ревмафактор.

Концентрация сперматозидов составляла 1 млн/мл, а всего в эякуляте их 2,4 млн, неподвижность – 100%. Через 12 дней после внутрикожной иммунизации аутолейкоцитами концентрация сперматозидов составила 111 млн/мл, всего в эякуляте 307 800 000, подвижных сперматозидов – 50% (46 и 4%, категорий А и В соответственно).

Концентрация сперматозидов до и после коррекции криоглобулинемии

			Параметр спермограммы							
До лечения			После лечения							
Концентрация сперматозидов, млн/мл	Количество больных	%	Концентрация сперматозидов, млн/мл							
			До 5		5-10		>10-<20		≥20	
			Количество	%	Количество	%	Количество	%	Количество	%
До 5	8	57,14	0		0		1	12,50	7	87,50
>5-<10	4	28,57	0		0		1	25,0	3	75,0
≥10-<20	2	14,29	0		0		0		2	100
Всего	14	100	0		0		2	14,29	12	85,71

Стабильность достигнутого эффекта была различной, и при повторном обследовании через 1–3 мес концентрация сперматозоидов у 5 из 14 пациентов (35,71%) уменьшилась, хотя и оставалась большей, чем до лечения. Ухудшение показателей спермограммы совпадало с восстановлением исходного уровня криоглобулинемии; у больных с продолжающейся ремиссией криоглобулинемии концентрация сперматозоидов превышала 20 млн/мл (9 пациентов).

У двух пациентов (криоглобулины 1-го и 3-го типов) добиться снижения концентрации патологических холодовых белков и увеличения количества сперматозоидов не удалось. В целом же полученные результаты свидетельствуют о том, что у части больных, отнесенных к группе с идиопатическим нарушением сперматогенеза, фактически имелось недиагностированное аутоиммунное состояние, проявлением которого служит наличие в сыворотке крови криоглобулинов.

ВЫВОДЫ

1. Высокая частота выявления криоглобулинов в сыворотке крови больных с идиопатической олигозооспермией и нормализация параметров спермограммы в результате лечения криоглобулинемии свидетельствуют о том, что криоглобулинемия является одной из частых потенциально устранимых причин мужского бесплодия. Следовательно, целесообразным является включение методики выявления криоглобулинов в алгоритм обследования мужчин с нарушением фертильности.

2. Частое выявление криоглобулинов 2-го и 3-го типа в группе тщательно обследованных пациентов с олигозооспермией свидетельствует о возможной связи криоглобулинемии с ранее перенесенным инфекционным заболеванием или хронической латентной инфекцией, так как основной причиной смешанной криоглобулинемии считаются инфекционные болезни.

Криоглобулинемія та олігозооспермія Б.А. Герасун, Р.А. Копец

Досліджена роль криоглобулінемії у розвитку олігозооспермії та встановлена висока частота змішаної криоглобулінемії в пацієнтів з олігозооспермією. Результати дослідження свідчать, що ефективна терапія криоглобулінемії методом внутрішньошкірної імунізації автолейкоцитами сприяє нормалізації показників спермограми.

Ключові слова: олігозооспермія, криоглобулінемія, внутрішньошкірна імунізація автолейкоцитами.

Cryoglobulinemia and oligospermia B.A. Gerasun, R.A. Kopec

We investigated a role of cryoglobulinemia as a contributing factor of oligospermia's development. High incidence rate of cryoglobulins presence in patients with disorder of spermatogenesis was established. The results of the study indicated that effective therapy of cryoglobulinemia is conducive to normalization of spermogram figures.

Key words: oligozoospermia, cryoglobulinemia, intradermal immunization with autoleukocytes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герасун Б.А., Андрейчин М.А., Р.Ю. Грицко и др. Застосування лейкоцитів у клітинній терапії // Гепатологія, 2012. – № 2 (16). – 4–17.
2. Герасун Б.А., Ворожбыт О.Б., Чопьяк В.В. Лечение аутоиммунных нарушений при хронических гепатитах В и С с помощью иммунизации ауто-лейкоцитами // Мир вирусных гепатитов. – М., 2006. – № 1. – С. 13–18.
3. Герасун Б.А., Копец Р.А. Патент України на винахід 97461. Застосування способу вакцинації автолейкоцитами як способу лікування оліго- та астенозооспермії; опубл. 10.02.2012.
4. Игнатова Т.М. Современные возможности изменения прогноза криоглобулинемического васкулита и В-клеточной лимфомы, ассоциированных с HCV-инфекцией // Клиническая гепатология, 2011. – № 1. – С. 9–11.
5. Константинова Н.А. Криоглобулины и патология. – М.: Медицина, 1999. – 176 с.
6. Клиническая иммунология и аллергология /Под ред. Г. Лолорамладшего, Т. Фишера, Д. Альтманпа. Пер. с англ. – М.: Практика, 2000. – 806 с.
7. Насонов Е.Л., Баранов А.А., Шилкина Р.П. Васкулиты и васкулопатии. – Ярославль: Верхняя Волга, 1999. – 616 с.
8. Сексология и андрология / Под ред. А.Ф. Возианова и И.И. Горпинченко. – К.: Абрис, 1997. – 880 с.
9. Сухих Г.Т., Божедомов В.А. Мужское бесплодие. – М.: Эксмо, 2009. – 240 с.
10. В.В. Чоп'як, І.Я. Господарський, Б.А. Герасун. Клінічний алгоритм надання медичної допомоги хворим на поліклоновий (змішаний) криоглобулінемічний синдром – D 89.1.- МОЗ України, Київ, 2006.
11. Brouet JC, Clauvel JP, Danon F, et al. Biologic and clinical significance of cryoglobulins: a report of 86 cases // Am. J. Med. – 1974. – Vol. 57. – P. 775–788.
12. Ferri C. Mixed cryoglobulinemia // Orphanet J. Rare Dis. – 2008. – Vol. 3. – P. 25–36.
13. Ferri C., Sebastiani M, Giuggioli D. et al. Mixed cryoglobulinemia: demographic, clinical and serological features and survival in 231 patients // Semin Arthritis Rheum. – 2004. – Vol. 33. – P. 355–374.
14. Meltzer M., Franklin E.C., Elias K. et al. Cryoglobulinemia: a clinical and laboratory study // Am. J. Med. – 1966. – Vol. 40. – P. 837–856.
15. WHO laboratory manual for the examination of human sperm and semem-cervical mucus interaction. – WHO, 4-th ed.: Cambridge universiti press, 1999.– 128 p.