



Причина бесплодия - иммунитет

Владимир Божедомов

Уролог-андролог и иммунолог, зав. отделением андрологии ЦКБ МПС РФ, д.м.н.

Иммунной системе в обеспечении нормального репродуктивного процесса принадлежит важная роль. Нарушения в ее работе становятся причиной различных заболеваний: бесплодия, привычного выкидыша, патологии развития плода.

Функция иммунной системы - основные сведения.

Существование сложных многоклеточных организмов, в том числе человека, невозможно без нормальной работы иммунной системы. Иммунная система защищает от микроорганизмов, охотно паразитирующих внутри нашего тела, и собственных клеток, которые перестали выполнять свои функции и стали бесконтрольно размножаться. Такие клетки называют раковыми. Чтобы обеспечить эти задачи существуют специальные иммунокомпетентные клетки. Их делят на несколько классов: *нейтрофильные гранулоциты, эозинофилы, макрофаги, Т-, В-, НК-лимфоциты* и др. Они способны распознавать «чужаков» и убивать их. В борьбе с инфекциями участвуют так же *иммуноглобулины (антитела)*. Они образуются после контакта иммунных клеток с микроорганизмом-паразитом и являются строго специфичными. Против каждого типа возбудителя образуются «свои» антитела, причем обычно нескольких видов. Они связываются с поверхностью проникших в организм паразитов, препятствуют их прикреплению к нашим клеткам и способствуют их быстрому уничтожению клетками-фагоцитами (пожирателями).

Чтобы уничтожить «чужих» иммунные клетки должны уметь отличать их от «своих». В основе такого распознавания лежат различия в структуре антигенов¹ клеток. Наиболее важным для такого распознавания являются антигены т.н. главного комплекса гистосовместимости, которые у человека названы лейкоцитарными или *HLA*. Каждый человек имеет уникальный набор HLA-антигенов. Все типы клеток организма, которые имеются у младенца на момент рождения, считаются «своими», иммунные клетки на них в норме не реагируют. Все, что отличается – чужим. «Чужими» являются проникшие в организм бактерии и глисты, «чужими» становятся и свои клетки, если в них проник ви-

¹ Антиген – генетически чужеродное вещество (белок, полисахарид, липопротеин или др.) с характерными химическими группировками, которое может вызвать в организме иммунный ответ.

рус или бактерия с внутриклеточным циклом развития (например, хламидия), или произошла их злокачественная трансформация. «Чужими» для мужчин иногда оказываются их собственные сперматозоиды, для женщин – сперматозоиды, проникшие в половые пути, и даже развивающийся внутри материнского организма плод. Почему так происходит?

Иммунологический контроль репродуктивной функции

Не все клетки организма доступны иммунным клеткам, циркулирующим в крови. Некоторые отделены специальными барьерами, например нейроны головного мозга – гемато-энцефалическим, клетки сперматогенеза в яичках – гемато-тестикулярным. Это связано с тем, что в процессе развития у некоторых клеток появляются белковые структуры (антигены), отсутствовавшие на момент рождения и в первые дни жизни. Например, сперматозоиды появляются у мальчиков в 11-13 лет и содержат элементы, необходимые для оплодотворения и ранее не контактировавшие с иммунными клетками. Поэтому на них может развиваться иммунный ответ. Чтобы этого избежать, сперматозоиды развиваются в специальных трубочках – *сперматогенных канальцах*, - стенки которых пропускают кислород, гормоны, питательные вещества, но не позволяют контактировать с циркулирующими в крови иммунными клетками. На развивающихся сперматогенных клетках и зрелых сперматозоидах отсутствуют антигены HLA-комплекса. Кроме того, специальные клетки яичка вырабатывают особое вещество – Fas - которое вызывает быструю смерть (*апоптоз*)² лимфоцитов, проникших в паренхиму яичка. В обеспечении иммуносупрессии³ участвуют и клетки яичка, продуцирующие мужской половой гормон тестостерон – известно, что *андрогены*, как и другие стероидные гормоны, способны ослаблять иммунный ответ.

Иммунная система регулирует и течение физиологической беременности.

Беременность на первый взгляд напоминает в иммунологическом плане ситуацию, возникающую при трансплантации, поскольку плод содержит как антигены матери, так и «чужие» антигены отца. Известно, что после пересадки (трансплантации) одному человеку органов другого развивается иммунологический ответ против донорского органа. В основе конфликта – несовпадение HLA-антигенов донора и реципиента (получателя органа). Чтобы сохранить функцию трансплантата приходится пожизненно применять препараты, подавляющие иммунитет. Однако наблюдения и многочисленные эксперименты по-

² Апоптоз – процесс активной клеточной гибели, генетически кодируемой с целью устранения ненормальных или нежелательных клеток.

³ Иммуносупрессия – снижение активности иммунных реакций

казывают, что иммунологическое распознавание чужеродного плода при физиологической беременности, в отличие от трансплантации органа, обычно не приводит к его отторжению.

В чем причины иммунологической привилегированности плода?

Во-первых, эмбрион и образующийся после внедрения в матку *трофобласт*⁴ не имеет на своей поверхности высокоиммуногенных антигенов HLA. Кроме того, поверхность зародыша покрыта специальным слоем из *сиаломуцина*, защищающим от иммунного распознавания. Во-вторых, в организме женщины происходят сложные перестройки, в результате которых иммунная система вырабатывает меньше тех клеток, которые способны убивать «чужие» клетки, в т.ч. клетки плода, и вырабатывает больше антител. Многие из этих антител не только не повреждают развивающийся зародыш, но даже являются «блокирующими или защитными факторами», предотвращающими распознавание клетками-киллерами тканей плода.

Особый интерес вызывает иммунокорректирующая функция плаценты. Многоядерный слой плаценты традиционно считают своеобразным «щитом» для плода. Одной из особенностей трофобласта является то, что клетки его наружной части на ранних сроках беременности не имеют на своей поверхности HLA-антигенов, а внутренний слой содержит нетрадиционный HLA-G. Предполагают, что данная форма HLA выполняет функцию «универсальной карты идентичности», позволяя клетке плода быть распознанной как не чужеродная, и избежать атаки специальных НК-лимфоцитов, которые убивают клетки, лишенные HLA. Кроме того, большие гранулярные лимфоциты в присутствии HLA-G продуцируют существенно меньшее количество различных провоспалительных цитокинов⁵ (ФНО- α , ИФН- γ и др.). Одновременно трофобласт секретирует β -2-микроглобулин, человеческий плацентарный белок-14, лактоген, а печень плода – α -фетопротеин, так же угнетающие пролиферативную активность Т-клеток. Как и клетки яичка, клетки плаценты продуцируют Fas, приводящий к локальной гибели лейкоцитов. Большие гранулярные лимфоциты материнской части трофобласта вырабатывают *трансформирующий фактор роста- β* , подавляющий активацию и пролиферацию цитотоксических клеток. Эти и ряд других механизмов обеспечивают подавление иммунологической реактивности материнского организма по отношению к развивающемуся плоду. Система антибактериального иммунитета, наоборот, активизируется: увеличива-

⁴ Трофобласт – часть зародыша, контактирующая с маткой и обеспечивающая обмен веществ с материнским организмом.

⁵ Цитокины - регуляторы иммунного ответа, обеспечивающие взаимодействие между иммунными клетками

ется количество клеток-пожирателей (гранулоцитов и моноцитов) в периферической крови матери, наблюдаются признаки их активации. Это обеспечивает надежную защиту от микроорганизмов-паразитов в условиях снижения активности специфического клеточного иммунитета.

Важную роль выполняют стероидные гормоны. Более полувека назад описано увеличение содержания в крови беременных женщин надпочечникового гормона *кортизола*, который способствует переключению клеточного цитотоксического иммунитета, способного уничтожать клетки плода, на гуморальный, при котором вырабатываются антитела. Повышение содержания гормона желтого тела *прогестерона* так же не только подготавливает матку к прикреплению зародыша, но и создает необходимую для этого иммуносупрессию, в частности, препятствуя синтезу *простогландинов*⁶.

Иммунопатология созревания половых клеток, оплодотворения и беременности

Несмотря на надежную защиту развивающихся половых клеток иногда возникают ситуации, когда они подвергаются иммунной атаке. У мужчин наиболее частой причиной этого являются острые и тупые травмы яичек, сопровождающиеся разрывом семенных канальцев и капилляров. При этом антигены попадают в кровь и вызывают иммунный ответ. Если травма была сильной, аутоиммунный воспалительный процесс в яичке – орхит, - обычно захватывает весь орган и заканчивается его соединительно-тканым перерождением. Если повреждение было субклиническим, то за счет естественных регенераторных процессов целостность гемато-тестикулярного барьера восстанавливается и сперматогенез продолжается. Но специфические *антиспермальные антитела (АСАТ)*, которые начали образовываться после травмы, продолжают циркулировать в сперме и крови и нарушают функцию мужских половых клеток. При этом объектом иммунной атаки оказываются все сперматозоиды, образовавшиеся как в травмированном, так и в здоровом яичке. В присутствии АСАТ снижается подвижность, происходит их агглютинация, оказывается практически невозможным прохождение через цервикальный канал в матку, нарушается *акросомальная реакция*⁷, без чего невозможно оплодотворение яйцеклетки даже «в пробирке». Такая ситуация получила название «аутоиммунное мужское бесплодие». По различным данным, от 5 до 40% мужчин из бесплодных пар имеют АСАТ; по результатам наших исследований более чем у 20% мужчин причиной

⁶ Простогландины – вещества, участвующие в воспалительной реакции

⁷ Акросомальная реакция – рецепторно-опосредованный выброс специальных ферментов при контакте сперматозоида с блестящей оболочкой яйцеклетки.

бесплодия являются аутоиммунные реакции против сперматозоидов. При этом нами было показано, что некоторые врожденные особенности строения половых органов, например *варикоцеле*⁸, в несколько раз повышают риск развития иммунного бесплодия и орхита после субклинической травмы мошонки.

Другой причиной развития антиспермального иммунитета являются урогенитальные инфекции. Принято считать, что одним из механизмов образования АСАТ на фоне инфекций является способность многих бактериальных, вирусных и грибковых организмов прикрепляться к мембране сперматозоидов и вызывать перекрестные реакции. Среди наиболее значимых следует назвать *хламидии, микоплазмы, вирусы герпеса и папилломавируса*. При диагностике вирусных инфекций прогностически наиболее важным является обнаружение возбудителя непосредственно в сперматозоидах, в меньшей степени - в мазке и специфических антител в крови.

Следует подчеркнуть, что не все антитела, вырабатываемые против антигенов сперматозоидов, представляют угрозу для их функции. Из более чем 40 антигенов сперматозоидов и семенной плазмы лишь для нескольких установлена связь с нарушением оплодотворяющей способности. Имеет значение, какие классы АСАТ имеются в сперме. Показано, что сперматозоиды утрачивают подвижность, когда АСАТ имеются на их хвостах, проникновение сперматозоидов в *цервикальную слизь (ЦС)* нарушено в присутствии АСАТ класса IgA, а степень нарушения оплодотворения яйцеклетки «в пробирке» пропорциональна проценту сперматозоидов, головки которых покрыты IgG. Поэтому остро стоит вопрос об адекватности результатов различных методов определения АСАТ в прогнозе фертильности.

АСАТ в цервикальной слизи у женщин встречаются в несколько раз чаще (30-40%), чем у мужчин. Имеются некоторые количества АСАТ и у фертильных женщин. Возможно, они участвуют в устранении неполноценных сперматозоидов. Когда АСАТ у женщин становится слишком много, они мешают оплодотворению. В половине случаев выработка у женщины собственных АСАТ является реакцией на попадание в половые пути спермы партнера, содержащей антитела, что делает сперму более иммуногенной. Кроме присутствия мужских АСАТ, антитела против сперматозоидов могут вырабатываться у женщин под действием различных факторов, например, при наличии урогенитальных инфекций, таких как грибы, хламидии или др., при увеличенном содержании лейкоцитов в сперме мужчин с неспецифическим бактериальным простатитом, при

⁸ Варикоцеле – расширение вен семенного канатика у мужчин

повышенном количестве сперматозоидов в сперме и т.д. Но в случае наличия АСАТ в сперме у постоянного партнера, особенно класса IgA, антиспермальные антитела в ЦС у женщин вырабатываются практически всегда, и это резко ухудшает прогноз на беременность.

Клиническим проявлением действия женских АСАТ является неспособность сперматозоидов проникать в ЦС. Это можно обнаружить при специальных лабораторных тестах, оценивающих взаимодействие сперматозоидов с ЦС.

Имеются многочисленные данные о снижении успеха программы ЭКО и ПЭ⁹ когда АСАТ имеются не только в ЦС, но и в сыворотке крови женщин. При этом показано, что нарушение взаимодействия гамет в присутствии АСАТ зависит не столько от количества АСАТ (что важно в процессе проникновения через ЦС), сколько от разнообразия антител, взаимодействующих со специфическим антигеном (-ми). По некоторым данным АСАТ у женщин могут также оказывать вредное влияние на раннее развитие эмбриона, имплантацию и течение беременности. Статистически значимую корреляция между присутствием АСАТ IgG и хронологией привычного выкидыша показали многие исследователи. Была высказана точка зрения, что повышение чувствительности к антигенам сперматозоидов может активировать материнскую иммунную систему против отцовских антигенов, представленных на эмбрионе.

К активации иммунопатологических процессов, повышенному синтезу провоспалительных цитокинов может приводить длительное присутствие в матке условно-патогенных микроорганизмов и вирусов. Это служит препятствием для создания в предимплантационный период локальной иммуносупрессии, которая необходима для формирования защитного барьера. Поэтому инфекцию рассматривают как один из основных факторов развития привычного выкидыша: у женщин, страдающих невынашиванием, диагноз хронического воспаления эндометрия имеет место в 60-75% случаев.

Антифосфолипидный синдром (АФС) так же является одной из причин привычного выкидыша. Фосфолипиды являются важной составляющей всех биологических мембран, поэтому появление *антифосфолипидных антител* может расстроить функцию клеток, стать причиной развития воспалительной реакции, вызвать нарушения свертывания крови, следствием чего являются недостаточность кровообращения в плаценте, тромбозы кровеносных сосудов, инфаркты в плаценте. АФС обнаруживают у 27-31% женщин с привычным выкидышем. Полагают, что у женщин с АФС образование тромбов в плаценте

⁹ ЭКО и ПЭ – экстракорпоральное оплодотворение и перенос эмбриона, метод оплодотворения яйцеклетки «в пробирке» с последующим переносом зародыша в матку

обуславливает потерю плода в основном после 10 нед беременности. Частота АФС повышается на 15% с каждым следующим выкидышем. Таким образом, АФС является не только причиной, но и осложнением привычного невынашивания беременности.

Предметом обсуждения являются *аутоантитела к гормонам*. Наиболее изученным является гормон ХГЧ¹⁰. Отечественными гинекологами показано, что у женщин с высоким уровнем антител к ХГЧ отмечается ранее (3-8 нед беременности) развитие хронической формы ДВС¹¹, что по-видимому, является одной из основных причин внутриутробной гибели эмбриона и плода.

Повышенные *титры антител против ДНК* обнаруживают у 22% женщин с привычным невынашиванием беременности и у 50% женщин с бесплодием. Аутоантитела к ДНК могут вызывать воспалительные изменения в плаценте и запускать реакцию отторжения плода. Обнаружение повышенного титра анти-ДНК-антител требует проведения полного скрининга по другим аутоантителам, поскольку это может быть связано с наличием других сопутствующих аутоиммунных заболеваний. Умеренно повышенные уровни анти-ДНК-антител в большинстве случаев не вызывают клинических проявлений вне беременности, и привычный выкидыш может быть единственным клиническим проявлением аутоиммунного процесса в организме.

Проявлением иммунологического конфликта матери и плода является *гемолитическая болезнь плода*. Она возникает, когда на эритроцитах плода имеется специфический антиген, полученный от отца и называемый *резус-фактором*, а у матери такой белок отсутствует (резус-отрицательная кровь). В результате у женщины могут начать вырабатываться антитела против эритроцитов плода, которые приводят к разрушению его эритроцитов. Поскольку в норме плод достаточно эффективно изолирован от иммунных клеток матери, такая реакция обычно развивается уже перед самыми родами или в момент родов, и плод не успевает пострадать. Опасность эти антитела будут представлять уже следующему резус-положительному плоду.

Еще одним иммунологическим осложнением является *тромбоцитопения* – повреждение под действием материнских антител тромбоцитов плода. Обычно при этом снижены вес плода, содержание в крови лейкоцитов и лимфоцитов. Установлено, что в 3 из 4 случаев это сопровождается наличием антител против отцовских HLA-антигенов плода.

¹⁰ ХГЧ – хорионический гормон человека, который начинает образовываться после наступления беременности и стимулирует развитие трофобласта

¹¹ ДВС – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови

Все описанные синдромы являются отражением гипериммунных состояний. Но последние годы появились данные, что причиной патологии беременности может явиться и отсутствие иммунологического распознавания матерью плода. Было показано, что женщины, близкие с мужем по HLA-антигенам, например родственники, страдают привычным выкидышем. Исследования HLA антигенов матери и плода при невынашивании беременности показали, что совпадающие с матерью по HLA антигенам II класса плоды отторгаются чаще всего. Оказалось, что развитие «терпимости» иммунной системы матери к плоду при беременности является разновидностью активного иммунного ответа, предполагающего на начальном этапе распознавание и активную переработку чужеродных антигенов. Сочетание уникальных качеств трофобласта с уникальными условиями иммунного микроокружения, в дальнейшем приводит к тому, что распознавание беременности организмом матери в норме включает не реакцию отторжения, а реакцию наибольшего иммунологического благоприятствования.

Бесплодный брак и неразвивающаяся беременность: что нужно сделать?

Диагностика иммунологических нарушений репродуктивной функции должна быть комплексной, к специалистам андрологу и гинекологу должны обращаться обязательно оба супруга. Обследование должно опираться на подробный анализ истории болезни, данные объективного осмотра и результаты современных лабораторных исследований. Лечение иммунологических нарушений репродуктивной функции должны проводить врачи, имеющие специализацию по иммунологии и достаточный опыт ведения таких больных.

Мужчинам: первым и обязательным этапом обследования является комплексное исследование спермы. Обнаружение АСАТ любым из лабораторных методов (MAR-тест, IBT-тест, ИФА/ELISA и др.) позволяет установить существование аутоиммунных реакций против сперматозоидов. Если АСАТ покрыты более 50% подвижных сперматозоидов ставится диагноз «мужское иммунное бесплодие». Дальнейшее обследование будет направлено на уточнение классов АСАТ, количества антител в сыворотке крови и на каждом сперматозоиде, прочности их связи с клетками, выраженности воспалительных реакций, существовании гормональных нарушений, сопутствующих нарушениях функции сперматозоидов (акросомальная реакция), степени нарушения проникновения в ЦС и т.д. Поскольку нередко причиной развития антиспермального иммунитета являются урогенитальные инфекции обязательно обследование на хламидии,

микоплазмы, герпес и другие возбудители. При этом нужно помнить, что выявляемость этих микроорганизмов у мужчин даже при использовании современных методов диагностики, таких как ПЦР¹², далеко не 100%.

Лечение мужского иммунного бесплодия базируется на данных об установленных причинах формирования данного состояния и может включать оперативные вмешательства, направленные на устранение непроходимости семявыносящего тракта и нарушений кровообращения, назначение различных гормональных и негормональных лекарственных препаратов, применения методов отмывки спермы для удаления антител с поверхности сперматозоидов с сохранением их функции. В данной области у нас имеется большой собственный опыт, отраженный в более чем в 10-и оригинальных Патентах на изобретения и 2-х Учебных пособиях для врачей. Нужно быть готовым к тому, что лечение может быть длительным. При отсутствии эффекта лечения в течение года может быть рекомендовано ЭКО и ПЭ с применением интроцитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ).

Женщинам: к развитию иммунологических нарушений так же часто приводят хронические воспалительные заболевания и генитальные инфекции, нередкой находкой является эндометриоз.

Для обнаружения АСАТ у женщин применяются пост-коитальный тест (ПКТ) и тест взаимодействия сперматозоидов с ЦС «на стекле» (проба Курцрока-Мюллера), непосредственное определение АСАТ методом непрямого MAR-теста, проточной цитофлуорометрии и др.

Привычный выкидыш, определяемый как 2 и более клинически обнаруженных потерь беременности на сроке до 20 недель, требует кариотипирования¹³ трофобраста: в основе 60-70% ранних самопроизвольных выкидышей лежит элиминация генетически неполноценного эмбриона; полезно так же определение динамики β -ХГЧ и прогестерона.

При обследовании пациенток с невынашиванием беременности в обязательном порядке должно проводиться исследование крови на аутоантитела. Как минимум должно проводиться определение антител к фосфолипидам, к ДНК и к факторам щитовидной железы. Важно отметить, что при привычном невынашивании беременности дополнительных симптомов аутоиммунных заболеваний может и не быть, а повышение уровня аутоантител в среднем бывает меньше, чем при манифестном течении аутоиммунных заболеваний.

¹² ПЦР – полимеразная цепная реакция, метод обнаружения микроорганизмов по их специфическим ДНК и РНК

¹³ Кариотипирование – определение числа и целостности хромосом в клетках

Важное диагностическое значение для диагностики иммунных форм невынашивания беременности имеет определение генотипа супругов по HLA-антигенам II класса. Желательно проведение фенотипирования по HLA-DR и -DQ антигенам. В современных условиях такое типирование проводится методом ДНК-диагностики. Для оценки степени распознавания аллоантигенов отцовского происхождения используется *смешанная культура лимфоцитов (СКЛ)*.

Методы лечебных воздействий при иммунологических нарушениях репродуктивной функции у женщин зависят от характера нарушений, степени нарушений и общего состояния пациентки. Обычно лечения включает три этапа:

- общая иммунокоррекция и лечение сопутствующих заболеваний;
- подготовка к беременности;
- лечение во время беременности.

Обнаружение АСАТ в цервикальной слизи требует регулярного применения презервативов для исключения попадания спермы в половые пути и уточнения причин иммунных реакций против сперматозоидов: АСАТ у мужа, инфекции, гормональные нарушения и др. Лечение включает меры специфического и неспецифического характера, в качестве дополнительного способа лечения может быть рекомендована внутриматочная инсеминация отмытой спермой мужа. При обнаружении значимых количеств АСАТ в сыворотке крови лечение может потребовать продолжительно периода, инсеминации и ЭКО до нормализации количества АСАТ не рекомендуются.

Общая иммунокоррекция и лечение сопутствующих заболеваний направлено на устранение иммунодефицитного состояния, выявленного при обследовании пациентки, лечение воспалительных заболеваний половых органов и генитальных инфекций, устранение дисбактериоза кишечника и влагалища, проведение общеукрепляющего лечения и психологической реабилитации. При этом нужно иметь в виду, что в настоящее время несмотря на довольно значительное количество препаратов, обладающих иммуномодулирующими свойствами, их применение у беременных резко ограничено. По-прежнему активно применяется *иммуноцитотерапия* – введение беременной лимфоцитов мужа или донора. В развитие этого метода большой вклад внесли отечественные ученые В.И.Говалло и В.М.Сидельникова. Метод может успешно применяться как при избыточных реакциях иммунной системы матери против плода, так и при совпадении генотипа супругов по HLA.

Наиболее успешным лечение невынашивания беременности бывает тогда,

когда иммунологическая подготовка к беременности начинается как минимум за месяц до прекращения предохранения. Конкретные лечебные мероприятия определяет врач-гинеколог. Независимо от исходных нарушений, после наступления беременности большое значение имеет периодическое исследование показателей гемостаза и анализа крови на аутоантитела с проведением адекватной коррекции в случае обнаружения отклонений.

Собственный опыт и данные научной литературы свидетельствуют, что бесплодие и осложнения беременности, связанные с нарушением регулирующей функции иммунной системы, в настоящее время в большинстве случаев излечимы.