

С.Ю. Ціпоренко

Вплив імунокорекції на запальний процес уrogenітального тракту у чоловіків з безпліддям

Досліджували концентрації металопротеїназ, про- та протизапальних цитокінів, маркерів активації лімфоцитів у сім'яній плазмі чоловіків з малосимптомними формами хронічного запалення уrogenітального тракту, ускладненого безпліддям. Встановлено зрушення цитокінового профілю, зниження концентрації металопротеїнази-2 ($576,4 \pm 89,3$ нг/мл, $P < 0,001$), хемокінів – фракталкіну ($16,3 \pm 1,3$ нг/мл, $P < 0,001$) і хемокін, регульований активацією, експресією і секрецією нормальних Т-клітин (РАНТЕС; $12,7 \pm 1,0$ нг/мл, $P < 0,001$), істотне збільшення вмісту інтерлейкіну (ІЛ)-8 ($215,5 \pm 7,8$ нг/мл, $P < 0,01$) та моноцитарного хемотаксичного фактора 1 ($926,4 \pm 30,2$ нг/мл, $P < 0,001$), збільшення індексу $CD25^+/CD95^+$, що вказує на порушення процесів апоптозу патологічних форм генеративних клітин і накопичення їх у спермі. Тривалий запальний процес у статевих органах супроводжується виснаженням локальної імунної системи, наслідком чого є розвиток інфертильності. Встановлено різноспрямовані зсуви співвідношення ІЛ-10/ІЛ-12: його збільшення відмічалось у групі осіб із підвищеним рівнем гіперголівчатих сперматозоїдів, а зменшення при мікросоматичному морфотипі сперматозоїдів. Отримані результати підкреслюють важливість мікрооточення у процесі дозрівання гамет. Показано, що включення алфагіну і гепатомаксу в комплекс імунореабілітації чоловіків з малосимптомними формами уrogenітальних інфекцій призводить до поліпшення субпопуляційного складу лейкоцитів сперми, до нормалізації концентрацій про-та протизапальних цитокінів, і, отже, до збільшення запліднюючого потенціалу.

Ключові слова: чоловіче безпліддя, сперматозоїди, сім'яна плазма, металопротеїнази, цитокіновий профіль, маркери активації лімфоцитів.

ВСТУП

Серед важливих напрямів сучасних наукових досліджень є вивчення системи протеолізу як особливої форми біологічної регуляції функцій організму. Остання активується в живих організмах під впливом мікробів, наслідком чого є утворення різноманітних біологічно активних речовин – ензимів, гормонів, пептидів, амінокислот тощо. Протеолітичні ензими, яким властива висока біологічна активність, беруть участь у функціонуванні різних органів і систем організму та в регуляції біологічних процесів. Останні не тільки здійснюють неспецифічний розпад білкових молекул, але й контролюють функції та системи організму, що реалізується в реакціях загального й обмеженого протеолізу. За сучасними уявленнями, саме ензими протеолізу

© С.Ю. Ціпоренко

підтримують рівновагу між загибеллю та деградацією клітин і їхнім відновленням [2]. У цих процесах беруть участь 4 класи протеолітичних ферментів – матриксні металопротеїнази, цистеїнові та серинові протеїнази, а також аспартатпротеїназа катепсин D [7]. Матричні металопротеїнази (ММП) – родина позаклітинних цинквмісних протеїназ. Сьогодні відомо близько 30 ММП, їхня роль у процесах морфогенезу, апоптозу, ремоделювання та резорбції тканин продовжує вивчатись [10, 17]. Існує п'ять типів ММП: колагенази (ММП-1, -8 та -13), желатинази (ММП-2 та -9), стромелізини (ММП-3, -10, -11), еластази (ММП-7, -12) та мембранний тип (МТ-ММП, ММП-14, -15, -16 та -17).

ММП секретуються як запальними, так і стромальними клітинами у відповідь на екзогенні стимули та прозапальні цитокіни:

фактор некрозу пухлин (ФНП)- α , інтерлейкін (ІЛ)-1 β . Понижують секрецію ММП інтерферон (ІФН)- γ , ІЛ-4 і ІЛ-10 [6].

Субстратом для желатиназ ММП-2 та ММП-9 є колаген I, IV, V, VII та X типів, еластин, фібронектин, ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-8, ІЛ-15, трансформуючий фактор росту (ТФР)- β , хемокіни, ІФН- β , розчинні форми рецепторів для низки інтерлейкінів тощо. Встановлено вплив ММП-3, ММП-8, ММП-13, ММП-14, ММП-28 на вміст хемокінів: фракталкіну, ІЛ-8, хемокіну регульованого активацією, експресією і секрецією нормальних Т-клітин (РАНТЕС) [8,15], що свідчить про їх участь у розвитку запального процесу. Активність ММП регулюється тканинними інгібіторами металопротеїназ (ТІМП) [5]. Досліджено роль ММП у функціонуванні чоловічої репродуктивної системи та у запліднюючій здатності сперми [11]. Продемонстровано підвищений вміст ММП-2 та ММП-9 у секреті передміхурової залози та сім'яників у чоловіків із гіперплазією простати [12]. Концентрації ММП-2 і ММП-9 та їх інгібіторів ТІМП-1 і ТІМП-2 вивчались у чоловічій спермі при різних формах патоспермії [4]. Вважається що ТІМП-1 є специфічним для ММП-9, а ТІМП-2 для ММП-2 [8]. Цілком зрозуміло, що під час запального процесу в урогенітальному тракті чоловіків вміст цитокінів і біологічних активних речовин, що регулюють їх функціональну активність зазнають певних змін. У чоловіків з наявністю хронічної урогенітальної інфекції було зареєстровано суттєве зростання концентрації низки цитокінів – ІЛ-1 β , ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-13, ІЛ-15, ІЛ-17, ІЛ-23, ІФН- α , моноцитарного хемотаксичного фактора (МХФ) та меншою мірою – ІЛ-2, ІЛ-10, ІЛ-12, ІЛ-18, ФНП- α , ІФН- γ [14]. Підвищений вміст цих медіаторів запалення вказує на залучення імунних факторів для захисту чоловічого генітального тракту. Ці зміни більш вагомі при розвитку ускладнень, зокрема, інфертильності. Вивчення особливостей взаємодії цитокінів і металопротеїназ під час запалення в чолові-

чих геніталіях, очевидно, матиме не тільки діагностичне та терапевтичне значення але й, можливо, вирішуватиме питання збільшення запліднюючого потенціалу [10].

Комплексна медикаментозна протизапальна терапія при малосимптомних урогенітальних запальних процесах не завжди забезпечує стійкий терапевтичний ефект, оскільки її результати залежать від біологічних властивостей збудників, стану системи імунітету та природної резистентності пацієнта. Виходячи з цього, в сучасних умовах велика увага приділяється вивченню ефективності імуноактивних препаратів у лікуванні хворих з хронічною урогенітальною патологією.

Слід підкреслити, що ефективні методи імунокорекції чоловіків з хронічною урогенітальною інфекцією не розроблено. Тому нашу увагу привернули сучасні імуноактивні препарати алфагін (виробник «Гербіон», Пакистан) і гепатомакс (виробник «Будьте здорові», Україна) при імунокорекції пацієнтів з безсимптомними формами хронічної урогенітальної інфекції.

Метою роботи було дослідження в сім'яній плазмі чоловіків з хронічним запаленням урогенітального тракту (ХЗУТ) цитокінів про- та протизапальної дії, маркерів активації лімфоцитів CD4⁺CD25⁺, CD4⁺HLA-DR4⁺ та CD4⁺CD95⁺, металопротеїназ ММП-2, ММП-9 та їх інгібіторів ТІМП-1, ТІМП-2 й патогенетичне обґрунтування використання імуноактивних препаратів алфагін та гепатомакс.

МЕТОДИКА

Інфертильні чоловіки (58 осіб), які брали участь у дослідженні, отримували курс імунокорекції. При цьому 28 пацієнтам було призначено комбінований імуноактивний препарат алфагін по одній капсулі двічі на день упродовж місяця та гепатомакс по одній капсулі тричі на день, також упродовж одного місяця, а решта 30 пацієнтів прийма-

ли загальноприйняте лікування. Протокол дослідження було схвалено біоетичним комітетом Луганського державного медичного університету. Усі пацієнти дали письмову інформовану добровільну згоду на участь у дослідженні.

Критерієм відбору пацієнтів у дослідження була відсутність запальної лейкоцитарної реакції та патологічної мікрофлори в сечовидільному каналі, секреті передміхурової залози та сім'яників, а також у спермі. Тривалість безпліддя становила 3–6 років. Вік обстежених від 24 до 40 років. На початок обстеження пройшло більше ніж рік після завершення попереднього лікування.

В анамнезі всі пацієнти перенесли інфекції, що передаються статевим шляхом (хламідії, уреоплазми, мікоплазми, герпесвірусна інфекція I/II типу) від 1 до 6 років назад, результати клініко-лабораторного вивчення були підтверджені бактеріоскопічним, бактеріологічним, культуральним і ПЛР-методами.

Аналіз сперми проводили через півгодини після еякуляції та згідно з інструкцією ВООЗ [16]. Враховували концентрацію сперматозоїдів, рН сім'яної рідини, вміст лейкоцитів та їх популяцій (гранулоцити, макрофаги, лімфоцити). Пацієнтів із лейкоспермією не включали у дослідження. Для визначення морфології використовували фарбування за Папаніколау [13].

У сироватці крові та в сім'яній плазмі імунотерапевтичним методом на лабораторному оснащенні Sanofi diagnostic Pasteur (Франція) за допомогою сертифікованих в Україні тест-систем виробництва ProCon («Протеиновый контур», РФ) вивчали вміст таких цитокінів: ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, ФНП- α . Концентрацію ІФН- γ визначали, використовуючи сертифіковані в Україні тест-системи виробництва НПО «Диагностические системы» (РФ). Вміст цитокінів ІЛ-8 та МХФ-1 досліджували у сироватці крові та в плазмі сперми імунотерапевтичним методом за допомогою тест-системи «ИФА-БЕСТ» фірми ООО «Вектор-Бест», (РФ), вміст РАН-

ТЕС та фракталкіну – тест-системи фірми «RayBiotech, Inc.» (США). Концентрації цитокінів ІЛ-12 та ІЛ-18 у сироватці крові та в сім'яній плазмі визначали імунотерапевтичним методом за допомогою аналізатора «STAT-FAX-303 PLUS» (США) при довжині хвилі 492 нм. Для визначення вмісту лімфоцитів, які на своїй поверхні експресують рецептори функціональної активації клітин CD4⁺CD25⁺, CD4⁺CD95⁺, CD4⁺HLA-DR4⁺ (TRAIL-рецептор 1), використовували еритроцитарний діагностичний з моноклональними антитілами виробництва НВЦ «МедБио-Спектр» (РФ). Обчислювали співвідношення імунотерапевтичних індексів – ІЛ-2/ІЛ-4, ІЛ-10/ІЛ-12 та CD25⁺/CD95⁺. Вміст ММП-2, ММП-9, ТІМП-1 та ТІМП-2 визначали у плазмі сперми імунотерапевтичним методом за допомогою тест-системи Biotrak («Amersham int.», Великобританія).

Контрольні значення концентрацій усіх вищезазначених цитокінів отримано під час дослідження 24 фертильних чоловіків без клінічних ознак хвороби.

Статистичний аналіз проводили на персональному комп'ютері за допомогою пакета програми «MedStat» [1]. При цьому для перевірки показників на нормальний розподіл використовували критерій χ^2 . Обчислювали медіану, 25%-й квантиль, 75%-й квантиль, довірчі інтервали. Для порівняння показників використовували критерій χ^2 , двобічну критичну ділянку. Для аналізу наявності та сили зв'язку розраховували коефіцієнт парної кореляції Кендала – τ . Проводили кількісну оцінку ефекту імунотерапії – обчислювали зниження абсолютного та відносного ризиків, а також кількість хворих, яких потрібно пролікувати.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Слід відмітити, що у плазмі сперми чоловіків із ХЗУТ концентрація ММП-2 достовірно знижувалася, кратність різниці була 2,9, вміст ММП-9, ТІМП-1 та ТІМП-2 не відрізнявся від контрольних значень (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст металопротеїназ (ММП-2, ММП-9) і тканинних інгібіторів металопротеїназ (ТІМП-1, ТІМП-2) у сім'яній плазмі чоловіків із хронічним запаленням уrogenітального тракту (ХЗУТ) (Me±m [95%-й довірчий інтервал])

Показники, нг/мл	Норма	Чоловіки з ХЗУТ
ММП-2	1646,4±124,8 [1351,2;1967,4]	576,4±89,3* [351,3;767,6]
ММП-9	47,4±9,7 [21,2;77,4]	44,9±8,5 [29,1;67,7]
ТІМП-1	23478,3±675,4 [21751,2;24867,4]	27547,6±704,7 [25424,5;28667,6]
ТІМП-2	4538,2±358,5 [3851,2;5367,4]	4794,5±289,9 [4021,6;5167,8]

*P < 0,001.

Результати дослідження цитокінового профілю свідчать (табл. 2), що в обстежуваних пацієнтів з безпліддям спостерігається достовірне збільшення в сім'яній плазмі концентрації ІЛ-8 (215,5±7,8 пг/мл, P<0,01), та МХФ (926,4±30,2 пг/мл, P<0,001).

Водночас у інфертильних чоловіків значно знижувалася в сім'яній плазмі концентрація ІЛ-1β, ІЛ-12, ІЛ-18. Концентрації ФНП-α, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-10, ІФН-γ не перевищували відповідні середні значення здорових чоловіків. Причому концентрації усіх вищевказаних цитокінів у периферичній крові пацієнтів із ХЗУТ коливалися в межах контролю. Досить цікавим виявилось вивчення співвідношення ІЛ-10/ІЛ-12. У літературі зазначається, що його зменшення є ключовим моментом у пригніченні ефективності локального імунного захисту в нижніх відділах сечостатевого тракту, інгібіції клітинно-опосередкованої імунної відповіді та розвитку імуносупресії [18]. У нашому дослідженні спостерігалися різноспрямовані зсуви цього співвідношення у інфертильних чоловіків. Достовірне збільшення співвідношення ІЛ-10/ІЛ-12 відмічалось у групі осіб із підвищеним рівнем гіперголівчатих сперматозоїдів, а зменшення – при мікросоматичному морфотипі сперматозоїдів. Отримані результати підкреслюють важливість мікрооточення у процесі дозрівання гамет. У групі інфертильних чоловіків

концентрація РАНТЕС була меншою за норму (12,7±1,0 пг/мл, P<0,05), кратність різниці в середньому становила 3,2 раза, а у частини хворих (13 осіб) – 6,3 раза (середнє значення 6,4±0,8 пг/мл, P<0,001). Морфометрія сперми у цієї групи пацієнтів показала гіперголівчатий морфотип сперматозоїдів (τ=-0,86, P=0,4). Вміст фракталкіну у плазмі сперми безплідних пацієнтів достовірно зменшувався (16,3±1,3 пг/мл, P<0,001) щодо контролю (29,4±1,5 пг/мл).

У хворих на ХЗУТ, яке ускладнене безпліддям, спостерігався достовірно підвищений вміст CD4⁺CD25⁺ у спермі як у відносних, так і в абсолютних значеннях, що свідчить про посилену активність протиінфекційного захисту. Вміст лімфоцитів у спермі інфертильних чоловіків з експресією CD4⁺CD95⁺ був підвищений у порівнянні з контрольною групою як у відносних, так і в абсолютних значеннях. Кратність різниці становила 1,5 раза. Водночас у 12 хворих (20,7 %) цей показник, навпаки, зменшувався відносно контролю, й середнє значення його було 9,0±1,1%, (P<0,01), що було менше в 1,3 раза від прийнятої норми. Знижений вміст імунокомпетентних клітин, готових до вступу в процес апоптозу, може призводити до дисбалансу в імунній системі. Про активацію протиінфекційного захисту свідчить тенденція до збільшення абсолютного числа

Таблиця 2. Імунологічні показники плазми сперми чоловіків із хронічним запаленням уrogenітального тракту (ХЗУТ) (Me±m [95%-й довірчий інтервал])

Показники	Норма	Чоловіки з ХЗУТ
Інтерлейкін (ІЛ)-1 β , пг/мл	54,6±0,8 [51,2;67,4]	5,4±0,5 *** [5,1;6,3]
ІЛ-2, пг/мл	86,5±1,7 [63,4;89,5]	14,2±1,3*** [12,5;16,5]
ІЛ-4, пг/мл	24,1±1,2 [23,5;32,7]	24,1±0,5 [23,1;25,6]
ІЛ-6, пг/мл	34,1±1,2 [32,1;36,7]	32,2±1,4 [30,2;35,7]
ІЛ-8, пг/мл	36,1±1,5 [35,4;40,3]	215,5±7,8 *** [197,0;237,7]
ІЛ-10, пг/мл	36,3±1,3 [32,2;39,4]	35,1±1,3 [32,5;41,5]
ІЛ-12, пг/мл	13,6±1,4 [11,8;15,8]	9,6±0,3* [8,3;10,2]
ІЛ-18, пг/мл	28,1±0,8 [25,6;30,4]	21,0±0,6*** [16,8;22,5]
ІЛ-2/ ІЛ-4	3,5±0,3 [2,9;5,1]	0,6±0,2*** [0,4;1,7]
ІЛ-10/ ІЛ-12	2,7±0,2 [2,2;5,4]	3,7±0,32** [2,0;6,7]
Моноцитарний хемотаксичний фактор (МХФ), пг/мл	82,4±1,4 [78,8;80,3]	926,4±30,2*** [845,1;969,6]
Фактор некрозу пухлин α , пг/мл	12,9±0,5 [11,2;15,9]	12,1±0,9 [11,5;15,2]
Хемокин, регульований активацією, експресією і секрецією нормальних Т-клітин (РАНТЕС), пг/мл	40,5±2,2 [37,6;43,5]	12,7±1,0 *** [9,8;14,6]
Фракталкін, пг/мл	29,4±1,5 [26,1;32,0]	16,3±1,3*** [12,9;18,4]
Інтерферон (ІФН)- γ , пг/мл	5,3±0,2 [5,0;5,7]	5,1±1,2 [4,3;7,1]
CD4 ⁺ CD25 ⁺ , %	10,7±1,5 [9,3;14,4]	16,3±1,4** [12,5;19,6]
CD4 ⁺ CD95 ⁺ , %	11,8±1,2 [8,1;14,0]	17,9±1,3 ** [10,3;21,1]
CD4 ⁺ HLA-DR4 ⁺ , %	1,2±0,2 [0,9;1,4]	1,8±0,2* [1,4;1,9]
CD25 ⁺ /CD95 ⁺	0,90±0,14 [0,80;1,12]	0,97±0,12* [0,96;1,22]

* P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001.

клітин з експресією CD4⁺HLA-DR4⁺ у цій групі хворих. Відповідно до літературних даних [3] ми обчислювали відношення CD25⁺/CD95⁺. Слід відмітити, що існує позитивний кореляційний зв'язок між підвищеним його значенням та наявністю гіперголівчатих сперматозоїдів. Водночас збільшення цього індексу спостерігалось у групі інфертильних чоловіків. Достовірне зменшення співвідношення CD25⁺/CD95⁺ спостерігалось у групі інфертильних чоловіків, спермометрія в яких встановила переважання нормосоматичних форм сперматозоїдів. Отримані результати свідчать, на наш погляд, про токсичну дію активованих лімфоцитів у спермі на тлі пригнічення процесів апоптозу.

Як показали результати нашого дослідження, розвиток такого ускладнення у чоловіків, як інфертильність на тлі хронічного запалення уrogenітального тракту, супроводжується не тільки зрушенням мікрооточення, але й патоморфологічними змінами генеративних клітин. У літературі зазначається [9], що ММП-2 інактивує низку хемокінів – фракталкін, РАНТЕС і прозапальні цитокіни – ІЛ-1β, ФНП-β. Протеоліз ІЛ-8 під впливом ММП-9, навпаки, підвищує активність цього цитокіну [15]. ММП-9, інактивуючи ІФН-γ, може призводити до тривалого перебігу запального процесу [10]. Інфламация характеризується зазвичай підвищеними концентраціями металопротеїназ [6], проте обстеження чоловіків із ХЗУТ вказує, навпаки, на зменшення вмісту ММП-2 та норму ММП-9 у сироватці сперми поряд із зниженими концентраціями прозапальних цитокінів ІЛ-1β, ІЛ-2, ІЛ-12, ІЛ-18. Це може свідчити про виснаження локальної відповіді імунної системи, незважаючи на нормальні імунологічні показники в системному кровообігу. Змінені параметри цитокінового профілю в уrogenітальному тракті, очевидно, негативно впливають на процеси матурації, наслідком чого є переважання патологічних форм сперматозоїдів у групі інфертильних чоловіків. Таким чином, визначення зни-

ження концентрації ММП-2 у плазмі сперми може слугувати негативною прогностичною ознакою розвитку інфертильності.

У наступній серії досліджень проводили імунореакцію 58 інфертильним чоловікам, в яких було встановлено дисбаланс субпопуляцій лейкоцитів у спермі. При цьому вивчалась ефективність і перспективність використання у чоловіків (28 осіб – 48,3 %) з малосимптомними формами уrogenітальної інфекції препаратів рослинного походження алфагін і гепатомакс (дослідна група). Група контролю (30 осіб – 51,7 %) отримувала загальноприйнятні засоби. Зміни субпопуляційного складу лейкоцитів в обох групах були однотиповими. Повторне дослідження сперми після проведення курсу імунореабілітації встановило тенденцію до покращення дисбалансу субпопуляцій лейкоцитів у більшості пацієнтів першої групи. Так, у 24 осіб (85,7 %) кількість гранулоцитів, моноцитів та лімфоцитів нормалізувалася. У решти (4 особи – 14,3 %) число лімфоцитів залишалось дещо вищим від норми, виявлено мікросоматичний морфотип сперматозоїдів.

Дослідження концентрації ММП-2 у спермі показало достовірне її збільшення у групі, яка приймала алфагін із гепатомаксом та не відрізнялася від норми ($P > 0,01$). У групі контролю вміст ММП-2 у спермі залишався нижчим від норми, хоча й мав тенденцію до підвищення ($P < 0,05$).

Після проведеного курсу імунореабілітації достовірно зменшився вміст ІЛ-8 і МХФ та підвищився вміст ІЛ-1β, ІЛ-2, ІЛ-12, ІЛ-18 у дослідній групі (табл. 3).

Водночас у групі контролю лише відмічалася тенденція до нормалізації їх концентрацій та відбувалася позитивна динаміка покращення субпопуляційного складу лейкоцитів у спермі, але суттєво менша, ніж у пацієнтів дослідної групи. Поряд з цим застосування алфагіну в комбінації з гепатомаксом сприяло поліпшенню самопочуття хворих, підвищенню працездатності, забезпечило відновлення апетиту, покращення емоційного стану, нор-

Таблиця 3. Вплив алфагіну та гепатомаксу на вміст імунологічних показників плазми сперми безплідних чоловіків (Me±m [95%-й довірчий інтервал])

Показники	Норма	До лікування	Після лікування	
			Алфагін і гепатомакс	Загальноприйняті засоби (контроль)
Інтерлейкін (ІЛ)-1β, пг/мл	54,6±0,8 [51,2;67,4]	5,4±0,5 *** [5,1;6,3]	53,1±0,45 [50,5;64,3]	38,4±0,7** [33,3;41,3]
ІЛ-2, пг/мл	86,5±1,7 [63,4;89,5]	14,2±1,3*** [12,5;16,5]	84,6±1,4 [64,5;88,4]	65,2±1,5** [50,5;71,4]
ІЛ-4, пг/мл	24,1±1,2 [23,5;32,7]	24,1±0,5 [23,1;25,6]	24,5±1,4 [23,4;30,2]	25,0±1,4 [24,1;26,2]
ІЛ-6, пг/мл	34,1±1,2 [32,1;36,7]	32,2±1,4 [30,2;35,7]	35,3±1,2 [31,9;37,4]	32,8±1,4 [29,2;37,1]
ІЛ-8, пг/мл	36,1±1,5 [35,4;40,3]	215,5±7,8 *** [197,0;237,7]	37,5±1,5 [36,1;41,4]	85,5±7,4** [39,5;104,6]
ІЛ-10, пг/мл	36,3±1,3 [32,2;39,4]	35,1±1,3 [32,5;41,5]	35,6±1,4 [33,0;38,5]	34,5±1,4 [32,2;41,3]
ІЛ-12, пг/мл	13,6±1,4 [11,8;15,8]	9,6±0,3* [8,3;10,2]	12,4±1,3 [11,3;14,6]	9,4±2,0* [7,4;11,5]
ІЛ-18, пг/мл	28,1±0,8 [25,6;30,4]	21,0±0,6*** [16,8;22,5]	27,3±0,5 [25,3;31,4]	22,6±1,4** [18,4;24,2]
ІЛ-2/ ІЛ-4	3,5±0,3 [2,9;5,1]	0,6±0,2*** [0,4;1,7]	3,4±0,5 [2,4;5,6]	2,4±0,* [1,3;2,8]
ІЛ-10/ ІЛ-12	2,7±0,2 [2,2;5,4]	3,7±0,32** [2,0;6,7]	2,8±0,5 [2,2;5,2]	3,6±0,4** [2,9;4,6]
Моноцитарний хемотаксичний фактор, пг/мл	82,4±1,4 [78,8;80,3]	926,4±30,2*** [845,1;969,6]	83,4±1,3 [77,7;80,]	454,2±34,5*** [39735;543,5]
Фактор некрозу пухлин α, пг/мл	12,9±0,5 [11,2;15,9]	12,1±0,9 [11,5;15,2]	11,9±0,73 [11,4;14,49]	12,7±1,1 [10,7;15,8]
Хемокін, регульований активацією, експресією і секрецією нормальних Т-клітин (РАНТЕС), пг/мл	40,5±2,2 [37,6;43,5]	12,7±1,0 *** [9,8;14,6]	40,2±4,2 [30,5;46,5]	31,4±1,4** [29,4;34,5]
Фракталкін, пг/мл	29,4±1,5 [26,1;32,0]	16,3±1,3*** [12,9;18,4]	27,4±1,6 [25,3;32,5]	17,5±1,2*** [15,4;19,7]
Інтерферон-γ, пг/мл	5,3±0,2 [5,0;5,7]	5,1±1,2 [4,3;7,1]	5,5±0,5 [5,0;5,9]	5,3±1,3 [4,5;6,7]
CD4 ⁺ CD25 ⁺ , %	10,7±1,5 [9,3;14,4]	16,3±1,4** [12,5;19,6]	10,5±145 [9,8814,4]	15,5±1,0** [13,9;17,5]
CD4 ⁺ CD95 ⁺ , %	11,8±1,2 [8,1;14,0]	17,9±1,3 ** [10,3;21,1]	12,1±1,2 [8,5;13,4]	16,7±1,4** [15,3;17,9]
CD4 ⁺ HLA-DR4 ⁺ , %	1,2±0,2 [0,9;1,4]	1,8±0,2* [1,4;1,9]	1,4±0,4 [0,9;1,49]	1,5±0,2* [1,2;1,8]
CD25 ⁺ /CD95 ⁺	0,90±0,07 [0,80;1,12]	0,97±0,12* [0,96;1,22]	0,91±0,05 [0,87;1,21]	0,94±0,07* [0,89;1,21]

*P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001.

малізацію сну, зменшення дратівливості та проявів емоційної лабільності.

Проводячи кількісну оцінку ефекту імунореабілітації алфагіном в комбінації з гепатомаксом у хворих на малосимптомні форми урогенітальної інфекції встановлено, що запропонований метод знижує неефективність лікування на 54,6 % (інтервальна оцінка: 26,0–72,1%, $P=0,05$) у порівнянні з загальноприйнятими методами. Запропонований методичний підхід знижує ризик його неефективності в 5,6 раза (інтервальна оцінка: 2,95–11,31 раза, $P=0,05$) в порівнянні з контрольним методом лікування. Причому кількість хворих, яких необхідно пролікувати становить 2,1 пацієнта (інтервальна оцінка: 1,2–5,2 пацієнта, $P=0,05$), тобто слід пролікувати 2–3 чоловіків у порівнянні зі стандартним методом терапії, щоб отримати додаткововилікуваного хворого.

ВИСНОВКИ

1. При хронічному запаленні в урогенітальному тракті чоловіків зрушується вміст про- та протизапальних цитокінів, знижується концентрація ММП-2, хемокінів – фракталкіну та РАНТЕС, різко збільшується вміст ІЛ-8, МХФ-1 та збільшується співвідношення $CD25^+/CD95^+$. Це вказує на порушення процесів апоптозу патологічних форм генеративних клітин, що призводить до їх накопичення у спермі.

2. Тривалий запальний процес у статевих органах супроводжується виснаженням локальної імунної відповіді, наслідком чого є розвиток інфертильності.

3. Включення алфагіну та гепатомаксу в імунокорекцію чоловіків з малосимптомними формами урогенітальних інфекцій покращує субпопуляційний склад лейкоцитів сперми, усуває морфофункціональні зміни сперматозоїдів та нормалізує концентрації про- та протизапальних цитокінів, що проявляється збільшенням їх запліднюючого потенціалу.

С. Ю. Ципоренко

ВЛИЯНИЕ ИММУНОКОРЕКЦИИ НА ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС В УРОГЕНИТАЛЬНОМ ТРАКТЕ У МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ

Изучали концентрации металлопротеиназ, про- и противовоспалительных цитокинов, маркеров активации лимфоцитов в семенной плазме мужчин с малосимптомными формами хронического воспаления уrogenитального тракта, осложненного бесплодием. Установлено сдвиги цитокинового профиля, снижение концентрации металлопротеиназы-2 ($576,4 \pm 89,3$ нг/мл, $P < 0,001$), хемокинов – фракталкина ($16,3 \pm 1,3$ пг/мл, $P < 0,001$) и хемокина, регулируемого активацией, экспрессией и секрецией нормальных Т-клеток (РАНТЕС) ($12,7 \pm 1,0$ пг/мл, $P < 0,001$), резкое увеличение содержания интерлейкина (ИЛ)-8 ($215,5 \pm 7,8$ пг/мл, $P < 0,01$), моноцитарного хемотаксического фактора 1 ($926,4 \pm 30,2$ пг/мл, $P < 0,001$) и увеличение индекса $CD25^+/CD95^+$. Это указывает на нарушение процессов апоптоза патологических форм генеративных клеток и накопление их в сперме. Длительный воспалительный процесс в половых органах сопровождается истощением локального иммунного ответа, следствием чего является развитие инфертильности. Установлено разнонаправленные сдвиги соотношения ИЛ-10/ИЛ-12: его увеличение отмечалось в группе лиц с повышенным уровнем гиперголовчатых сперматозоидов, а уменьшение при микросоматическом морфотипе сперматозоидов. Полученные результаты подчеркивают важность микроокружения в процессе созревания гамет. Показано, что включение алфагина и гепатомакса в иммунореабилитацию мужчин с малосимптомными формами уrogenитальных инфекций приводит к улучшению субпопуляционного состава лейкоцитов спермы, к нормализации концентраций про- и противовоспалительных цитокинов, и, следовательно, к увеличению оплодотворяющего потенциала.

Ключевые слова: мужское бесплодие, сперматозоиды, семенная плазма, металлопротеиназы, цитокиновый профиль, иммунореабилитация, алфагин, гепатомакс.

S. Yu. Tsiporenko

INFLUENCE OF IMMUNOCORRECTION ON THE INFLAMMATORY PROCESS IN THE UROGENITAL TRACT IN MEN WITH INFERTILITY

We studied the concentration of metalloproteinases, pro- and anti-inflammatory cytokines, lymphocyte activation markers in seminal plasma of men with oligosymptomatic forms of chronic inflammation of the urogenital tract complicated with infertility. It was shown that chronic inflammation of the urogenital tract shifts the levels of cytokine profile, reduces the concentration of metalloproteinase-2 ($576,4 \pm 89,3$ ng/ml, $P < 0,001$), chemokines – fractalkine ($16,3 \pm 1,3$ pg/ml,

$P < 0,001$) and chemokine regulated by activation, expression and secretion of normal T-cells (RANTES ($12,7 \pm 1,0$ pg/ml, $P < 0,001$). Additionally, we observed a sharp increase in IL-8 ($215,5 \pm 7,8$ pg/ml, $P < 0,01$), MCP-1 ($926,4 \pm 30,2$ pg/ml, $P < 0,001$) and elevation of the CD25 + / CD95 + ratio. These observations point for alterations in apoptotic mechanisms in pathological forms of the generative cells and their accumulation in the sperm. Prolonged inflammation of the genital area is accompanied by depletion of the local immune system resulting in the development of infertility. The multidirectional shifts in IL-10/IL-12 index have been established: an increase in the group of patients with elevated level of hypercapitated spermatozoa and its reduction in microsomatic morphotype of spermatozoa. These data emphasize the importance of the microenvironment in maturation of gametes. It was shown that an inclusion of alfagin and hepatomax in immunorehabilitation of men with oligosymptomatic forms of urogenital infections improves leukocyte subpopulation content of sperm and concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines, and therefore, results in an increase in fertilizing potential. Key words: male infertility, sperm, seminal plasma, metalloproteinases, cytokine profile, immunorehabilitation, alfagin, hepatomax.

Lugansk State Medical University

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Лях Ю.Є., Гурьянов В.Г. Основы компьютерной биостатистики: анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом. – Донецк: MedStat, 2004. – 212 с.
- Орлова Л., Петров С. Активність металопротеїнази матриксу (MMP-2) і катепсिनоподібної протеїнази D у різних видів змій // Вісник Львів. ун-ту. – 2011. – №55. – С. 34–38.
- Порядин Г.В., Салмаси Ж. М., Казмирский А. Н. Активационные маркеры лимфоцитов как показатели дисрегуляции иммунной системы при воспалении // Патология и терапия. – 2006. – №2. – С. 2–7.
- Baumgart E., Lenk S.V., Loening S.A., Jung K. Quantitative differences in matrix metalloproteinase (MMP)-2, but not in MMP-9, tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 or TIMP-2, in seminal plasma of normozoospermic and azoospermic patients // Hum. Reprod. – 2002. – №17. – P. 2919–2923.
- Benjamin M.M., Khalil R.A. Matrix metalloproteinase inhibitors as investigative tools in the pathogenesis and management of vascular disease // EXS. – 2012. – 103. – P. 209–279.
- Elkington, P.T., O’Kane, C.M., Friedland, J.S. The paradox of matrix metalloproteinases in infectious disease // Clin. Exp. Immunol. – 2005. – 142. – P. 12–20.
- Jedinak A., Maliar T. Inhibitors of proteases as anticancer drugs // Neoplasma. – 2005. – 52. – P. 185–192.
- Jennifer R., Fang Li, Xiaobei Zhang. ELR-CXC chemokine receptor antagonism targets inflammatory responses at multiple levels // J. Immun. – 2009. – 182. – P. 3213–3222.
- Loetscher, P., Clark-Lewis, I. Agonistic and antagonistic activities of chemokines // J. Leukoc. Biol. – 2001. – 69. – P. 881–884.
- Marquez-Curtis L.A., Shirvaikar N., Robert Turner A., Mirza I. Membrane type-1 matrix metalloproteinase expression in acute myeloid leukemia and its upregulation by tumor necrosis factor- α // Cancers. – 2012. – 4. – P. 743–762.
- McCauley T.C., Zhang H.M., Bellin M.E., Ax R.L. Identification of a heparin-binding protein in bovine seminal fluid as tissue inhibitor of metalloproteinases-2. Mol // Reprod. Dev. – 2001. – 58. – P. 336–341.
- Pal S., Ganguly K.K., Chatterjee A. Extracellular matrix protein fibronectin induces matrix metalloproteinases in human prostate adenocarcinoma cells PC-3 // Cell Commun. Adhes. – 2013. – 20(5). – P. 105–114.
- Papanicolaou G.N. New cancer diagnosis. Proceedings of the Third Race Betterment Conference, January 1928. Race Betterment Foundation, Battle Creek, Michigan. – 1928. – P. 528–534.
- Seshadri S., Bates M., Vince G., Lewis Jones D. I. Cytokine expression in the seminal plasma and its effects on fertilisation rates in an IVF cycle // Andrologia. – 2011. – 43. – P. 378–386.
- Van den Steen P.E., Proost P., Wuyts A., Van Damme J., Opdenakker G. Neutrophil gelatinase B potentiates interleukin-8 tenfold by aminoterminal processing, whereas it degrades CTAP-III, PF-4, and GRO- α and leaves RANTES and MCP-2 intact // Blood. – 2001. – 96. – P. 2673–2681.
- WHO laboratory manual for the examination of human sperm and semem-cervical mucus interaction. – WHO, 4-th edn.: Cambridge universiti press, 1999. – P. 128.
- Zakošek Pipan M., Kosec M., Mrkun J., Zrimšek P. Gelatinases in boar seminal plasma and their relation to semen indicators // Acta Vet. – 2010. – 79. – P. 491–496.
- Zhang X., Ibrahim E., de Rivero Vaccari J.P., Lotocki G., Aballa T.C. Involvement of the inflammasome in abnormal semen quality of men with spinal cord injury // Fertil. Steril. – 2013. – 99. – P. 118–124.

ДЗ «Луган. мед. ун-т»
E-mail: tsiporenko@ukr.net

Матеріал надійшов до
редакції 01.08.2013