

Современный взгляд на иммунологические факторы нарушения мужской репродуктивной функции

М. Н. Тарасова, Г. Н. Чистякова, И. А. Газиева, И. И. Ремизова

Отделение иммунологии и микробиологии ФГУ «НИИ ОММ Росмедтехнологий», г. Екатеринбург

Modern view at immunology factors of damage of reproductive function

M. N. Tarasova, G. N. Chistjakova, I. A. Gazieva, I. I. Remisova

Резюме

Цель исследования: оценить особенности функционального состояния иммунной системы мужчин из супружеских пар с бесплодием в зависимости от степени нарушения процессов сперматогенеза. Проведено клинично-лабораторное обследование 99 инфертильных мужчин: 55 мужчин с показателями спермограммы, соответствующими нормам, рекомендованным ВОЗ, и 44 мужчины с отклонением от нормы одного или несколько показателей спермограммы. Группу сравнения составили 15 здоровых мужчин с нормальной репродуктивной функцией. Состояние структуры хроматина сперматозоидов и содержание дефектных клеток в эякуляте оценивали с использованием метода проточной цитофлуориметрии. Уровень IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TGF- β , TNF- α и С-реактивного протеина в спермальной плазме и сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. Для оценки достоверности различий между группами использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, для преодоления проблемы множественных сравнений использовали поправку Бонферрони (различия считались статистически достоверными, если уровень значимости не превышал 0,01). Установлено повышение синтеза IL-1 β , IL-8, TNF- α , IL-10 в спермоплазме и возрастание концентрации IL-1RA и IL-8 в сыворотке крови у мужчин из супружеских пар с бесплодием при нормо- и патоспермии. При нарушении структурной организации сперматозоидов у пациентов с нормоспермией повышается концентрация IFN- γ и TNF- α в сыворотке крови и концентрация CRP и TGF- β в спермоплазме. Патоспермия, наряду с данными изменениями, сопровождается усилением локальной продукции IL-2, IL-4 и IFN- γ на фоне снижения концентрации IL-6.

Нарушения процесса гаметогенеза сопровождаются активацией иммунной системы, гиперпродукцией первичных и вторичных медиаторов межклеточного взаимодействия на локальном уровне, выходом маркеров воспалительной реакции в системный кровоток. Неспособность протекторных механизмов препятствовать дальнейшему прогрессированию патологического процесса может приводить к нарушению репродуктивной функции и патоспермии.

Ключевые слова: сперматогенез, цитокины, семенная плазма, бесплодие, нормоспермия, патоспермия.

Summary

The purpose of research: to estimate features of a functional condition of immune system of men from married couples with infertility depending on a degree of damage of spermatogenesis processes. The clinic-laboratory inspection of 89 infertility men is carried out: 55 men with parameters of the spermograms, corresponding the norms, recommended by the WHO, and 44 men with a deviation from the recommended norms of one or several parameters of the spermograms. The group of comparison was made by 15 healthy men with normal reproductive function. A condition of sperm chromatin structure and the contents of defective cells in ejaculate estimated with use of a method flow cytometry. Level of IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TGF- β , TNF- α and C-reactive protein in seminal plasma and serum of blood defined a method of immunoenzym assay. For an estimation of reliability of distinctions between groups is used the Manna-Witne's nonparametric criterion, for overcoming a problem of plural comparisons is used the Bonferroni's amendment (distinctions were considered statistically authentic if the significance value did not exceed 0,01). Increase of synthesis of IL-1 β , IL-8, TNF- α , IL-10 in seminal plasma and increase of concentration of IL-1RA and IL-8 in serum of blood at men from married couples with infertility is established at normo- and pathospermia. At damage of the sperm organization structure at patients with normospermia concentration of IFN- γ and TNF- α in serum of blood and concentration of CRP and TGF- β in seminal plasma increase. Pathospermia, alongside with the given changes, it is accompanied by increase of local production of IL-2, IL-4 and IFN- γ on a background of decrease of concentration of IL-6.

Damage of process of gametogenesis are accompanied by activation of immune system, hyperproduction primary and secondary intercellular interaction mediators at a local level, an output of markers of inflammatory reaction in a system blood-groove. Inability protector mechanisms interferes with the further progressing of pathological process can lead to damage of reproductive function and pathospermia.

Keywords: spermatogenesis, cytokines, seminal plasma, infertility, normospermia, pathospermia.

М. Н. Тарасова — м. н. с. отделения иммунологии и микробиологии;

Г. Н. Чистякова — д. м. н., руководитель отделения иммунологии и микробиологии;

И. А. Газиева — к. б. н., с. н. с. отделения иммунологии и микробиологии;

И. И. Ремизова — к. б. н., н. с. отделения иммунологии и микробиологии.

Введение

Бесплодный брак остается одной из важнейших социальных и медицинских проблем, как в нашей стране, так и за рубежом. Тенденция к ухудшению качества спермы и, как следствие, увеличению доли мужского фактора в структуре бесплодного брака, диктует необходимость изучения особенностей развития патологических процессов, приводящих к мужской инфертильности.

Традиционным, рекомендованным ВОЗ, критерием оценки состояния мужской репродуктивной функции считается исследование эякулята, включающее в себя определение концентрации, подвижности, морфологии сперматозоидов [1]. Однако общепринятые методы лабораторной оценки сперматогенеза позволяют регистрировать лишь грубые морфологические изменения в половых клетках и не дают возможности определить тонкие структурно-функциональные нарушения в ядерном аппарате сперматозоидов, в результате чего проводится дополнительное, часто дорогостоящее обследование женщин, а нередко и их лечение.

В связи с этим особое значение для диагностики бесплодия у мужчин приобретает внедрение информативных и высокочувствительных лабораторных методов оценки репродуктивного потенциала, к которым относится исследование структурной организации хроматина сперматозоидов.

Несмотря на не ослабевающий в последние годы интерес исследователей к оценке роли иммунной системы в нарушении репродуктивной функции мужчин, остается открытым вопрос, насколько взаимосвязаны механизмы иммунологической регуляции процессов сперматогенеза с нарушением структурной организации хроматина гамет.

Сперматогенез, являющийся одним из наиболее динамичных процессов в человеческом организме, связанных с клеточной регенерацией и дифференцировкой, происходит под контролем совокупности гормонов, цитокинов и факторов роста. Нормальное протекание гаметогенеза обеспечивается взаимодействием большого количества клеток, которое осуществляется не только при непосредственных контактах, но и за счет сложной системы цитокиновых сигналов, играющих ключевую роль в координации всех процессов организма [2, 3, 4, 5]. В свою очередь выработка цитокинов является непосредственным отражением функциональной активности иммунокомпетентных клеток и состояния иммунной системы в целом. Нарушения регуляторных взаимодействий на разных этапах формирования половых клеток приводят к развитию патологического процес-

са в регулируемой системе и в организме в целом.

В последние годы предпринимаются попытки определить диагностическую значимость цитокинов посредством выявления связи между продукцией этих пептидов и показателями спермограммы. Ряд исследователей доказал существование корреляционных зависимостей между содержанием цитокинов и морфо-функциональными, а также количественными показателями эякулята [5, 6, 7]. В то же время практически не изучена степень участия иммунной системы в процессах, приводящих к нарушению организации и передачи генетического материала. Учитывая важную роль иммунной системы как в сперматогенезе, так и в репродукции человека в целом, очень актуальными являются исследования, способствующие появлению новых знаний, позволяющих выявить адекватные иммунологические индикаторы состояния репродуктивного здоровья для повышения эффективности диагностики нарушений фертильности мужчины [8, 9]. Результаты фундаментальных исследований состояния иммунной системы мужчины при нарушении тонких механизмов упаковки и передачи генетической информации позволят задать новые векторы диагностического поиска резервов для снижения количества бесплодных браков.

Цель: оценить особенности функционального состояния иммунной системы мужчин в зависимости от степени нарушения процессов сперматогенеза.

Материал и методы

Проведен анализ результатов клинко-лабораторного обследования 99 пациентов из числа бесплодных супружеских пар и 15 здоровых фертильных мужчин репродуктивного возраста. В ходе исследования на основании морфо-функциональных и количественных характеристик эякулята были сформированы следующие группы: 1-я группа — 55 мужчин из числа бесплодных супружеских пар с показателями спермограммы, соответствующими нормам, рекомендованным ВОЗ, 2-я группа — 44 мужчины из бесплодных супружеских пар с отклонением от норм одного или нескольких показателей спермограммы. Группу сравнения составили 15 здоровых мужчин фертильного возраста с нормальной репродуктивной функцией.

Критерием исключения для пациентов основных групп служили женский фактор бесплодия, а также гормональные нарушения и вирусно-бактериальные инфекции, верифицированные при обследовании супружеской пары.

Аналитический этап исследования включал макро- и микроскопическое исследование эяку-

лята с использованием стандартного протокола, рекомендованного ВОЗ [1]. Состояние структуры хроматина сперматозоидов оценивали с использованием метода проточной цитофлуориметрии на анализаторе «FACSCalibur» фирмы «Becton Dickinson» (США).

Помимо оценки степени компактизации хроматина сперматозоидов данный метод позволял определить уровень неспецифической флуоресценции, отражающий процентное содержание дефектных клеток, присутствующих в исследуемом образце.

Определение уровня медиаторов межклеточного взаимодействия в сыворотке крови и семенной плазме осуществляли методом ИФА в соответствии с рекомендациями фирм-изготовителей. Уровень IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TGF- β определяли с использованием наборов фирмы «Biosource» (Бельгия), содержание TNF- α оценивали с помощью тест-систем «Cytimmune» (США). Концентрацию С-реактивного протеина (CRP) определяли с использованием наборов фирмы «Biomerica» (США).

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием программных пакетов Microsoft Excel 7.0 и «Statistica 6.0» (данные представляли в виде арифметического среднего (M) и стандартного отклонения (σ). Для оценки достоверности различий между группами использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, для преодоления проблемы множественных сравнений применяли поправку Бонферрони (различия средних считали статистически достоверными, если уровень значимости p не превышал 0,01).

Результаты и их обсуждение

Изучение структурной организации сперматозоидов у мужчин из супружеских пар с бесплодием выявило значительные колебания значений параметров в группе пациентов с нормоспермией. Разнородность результатов исследования позволила подразделить данную группу на три подгруппы. Критерием отбора являлись показатели, характеризующие организацию мужских половых клеток — степень компактизации хроматина сперматозоидов D/s (в норме более 48,5 усл.ед., патент №2262107 на изобретение «Способ определения зрелости сперматозоидов») и количество дефектных клеток HDS (в норме менее 15%):

1-я подгруппа — 17 пациентов, в образцах эякулята которых показатели степени компактизации хроматина D/s и количества дефектных клеток HDS находились в пределах установленной нормы (D/s > 48,5 усл.ед., HDS < 15,0%);

2-я подгруппа — 19 пациентов, у которых один из показателей находился в пределах ус-

тановленной нормы, в то время как другой не соответствовал нормативному значению (D/s > 48,5 усл.ед. и HDS > 15,0% или D/s < 48,5 усл.ед. и HDS < 15,0%). Следует отметить, что у большинства пациентов этой подгруппы — 63,1% (12 мужчин) — параметр HDS превышал допустимое значение, в то время как степень компактизации D/s была в норме. У 36,8% (7 мужчин) только параметр D/s не соответствовал нормальному значению.

3-я подгруппа включала 19 пациентов, в эякуляте которых степень компактизации хроматина D/s и количество дефектных клеток HDS не соответствовали установленным нормам (D/s < 48,5 усл.ед.; HDS > 15,0%).

Оценка содержания медиаторов межклеточного взаимодействия показала, что наиболее выраженные отклонения имели место у пациентов из бесплодных супружеских пар с патоспермией. При определении содержания сывороточных провоспалительных цитокинов у этих мужчин выявлено статистически значимое увеличение уровней IFN- γ , TNF- α и IL-8, превышающих значения аналогичных показателей здоровых фертильных мужчин в 1,6; 1,7 и 14,6 раза соответственно (табл. 1).

Наблюдаемое у пациентов с патоспермией увеличение уровня одного из основных индукторов воспалительной реакции TNF- α , а также хемокина IL-8, продукция которого ассоциируется с хроническими и острыми воспалительными состояниями, свидетельствует о наличии «латентного» воспалительного процесса.

В отношении содержания иммунорегуляторных цитокинов статистически значимые различия отмечены в содержании IL-1RA, концентрация которого превышала значение аналогичного показателя группы сравнения в 2,4 раза.

С нарастанием степени выраженности нарушений структурной организации сперматозоидов в неоднородной группе пациентов с нормоспермией количество иммунологических параметров, для которых были характерны отклонения от значений в группе сравнения, нарастало.

Так у пациентов 1-й подгруппы, степень компактизации хроматина сперматозоидов и относительное число дефектных клеток которых соответствовали значениям нормы, статистически значимое повышение в продукции провоспалительных цитокинов отмечалось только для IL-8. У пациентов 2-й подгруппы, в эякуляте которых зарегистрировано отклонение от нормы одного из показателей (D/s или HDS), наряду с повышением концентрации IL-8 отмечалось увеличение синтеза IFN- γ . Содержание данного цитокина превышало значение

аналогичного показателя здоровых фертильных мужчин в 1,7 раза.

У пациентов с наиболее выраженными отклонениями параметров флуоресцентного анализа эякулята (3-я подгруппа) зарегистрированы статистически значимые различия не только в синтезе провоспалительных цитокинов IL-8 и IFN- γ , но и в продукции TNF- α , что было характерно также для пациентов с патоспермией. В сравнении со здоровыми фертильными мужчинами, у этих пациентов концентрация IFN- γ в сыворотке крови была в 1,8 раз выше, а для TNF- α данное превышение составляло 2,6 раза. Увеличение выработки проапоптотического маркера TNF- α может свидетельствовать о более интенсивных процессах запрограммированной клеточной гибели у мужчин с нормальными показателями спермограммы, однако, нарушенной структурной организацией хроматина половых клеток.

Таким образом, повышение концентрации IL-8 отмечалось у всех пациентов с нормоспермией, превышая значения здоровых фертильных мужчин в 4,3 раза в 1-й подгруппе, в 2,7 раза во 2-й подгруппе и 3,97 раза в 3-й подгруппе. Поскольку активная продукция IL-8 начинается при встрече антигенпрезентирующих клеток организма с различными видами патогенов, наблюдаемое повышение концентрации IL-8 в сыворотке пациентов всех подгрупп с нормоспермией отражает развитие воспалительных процессов.

Помимо выброса провоспалительных факторов при запуске цитокинового каскада происходит увеличение продукции противовоспалительных медиаторов, включающих иммунорегуляторные цитокины, антагонисты рецепторов и растворимые (плазменные) рецепторы цитокинов. Антагонист рецептора IL-1 (IL-1RA) представляет собой цитокиноподобную молекулу, связывающуюся со специфическим рецептором IL-1, обеспечивая невозможность передачи внутриклеточного сигнала. Синтез иммунорегуляторного IL-1RA был повышен у всех пациентов из числа бесплодных супружеских пар с нормоспермией. Так, в сравнении со здоровыми фертильными мужчинами уровень данного цитокина в 1-й подгруппе был выше в 3,8 раза, для 2-й и 3-й подгрупп превышение составило 2,8 и 2,2 раза соответственно.

В связи с тем, что присутствующий в норме сывороточный IL-1RA выполняет роль своеобразного буфера, блокирующего действие эндогенного IL-1 и защищающего организм от резкого увеличения уровня этого цитокина, полученные данные позволяют заключить, что наиболее выраженная продукция IL-1RA у мужчин из бесплодных супружеских пар с нормоспермией активируется под действием про-

воспалительных агентов, ограничивая воспалительную реакцию и препятствуя реализации их провоспалительного потенциала.

Наряду с повышенным уровнем рецепторного антагониста IL-1, у пациентов 1-й подгруппы с нормативными значениями показателей D/s и HDS выявлено статистически значимое повышение синтеза IL-10, концентрация которого в 4 раза превышала значение аналогичного параметра здоровых фертильных мужчин. Поскольку IL-10 играет роль ключевого регулятора иммунного ответа, можно предположить, что повышенный уровень этого цитокина у пациентов 1-й подгруппы выполняют функцию ограничения развития воспалительных реакций по принципу обратной связи.

Таким образом, анализ результатов исследования уровня медиаторов межклеточного взаимодействия в сыворотке крови показал, что усиление синтеза провоспалительного IL-8 и иммунорегуляторного IL-1RA является общим признаком в цитокиновом статусе пациентов из числа бесплодных супружеских пар как при пато-, так и при нормоспермии, что позволяет дифференцировать их по этому признаку от группы здоровых фертильных мужчин.

Повышение уровней IL-1RA и IL-8 на фоне усиленного синтеза IL-10, отмеченное у мужчин 1-й подгруппы, можно считать ключевым моментом изменения цитокинового баланса, приводящим к бесплодию в супружеской паре.

Нарушение организации хроматина сперматозоидов и повышение относительного количества дефектных клеток сопровождается, наряду с увеличением содержания в сыворотке крови IL-1RA и IL-8, повышением концентрации IFN- γ и TNF- α , что свидетельствует о большей вовлеченности цитокиновой сети в регуляцию процессов сперматогенеза у пациентов с отклонениями от нормы показателей D/s и HDS (3-я подгруппа и группа патоспермии).

При исследовании локальной продукции цитокинов в спермоплазме (табл. 2) у пациентов с патоспермией выявлено статистически значимое увеличение концентрации всех провоспалительных цитокинов, за исключением IL-6, уровень которого был достоверно ниже, что может быть связано с прекращением накопления этого раннего индуцибельного цитокина при переходе воспаления из острой фазы в хроническую у пациентов из бесплодных супружеских пар с патоспермией.

Наибольшие концентрации были отмечены для IL-1 β , IL-8, TNF- α и CRP, содержание которых по сравнению с аналогичными показателями здоровых фертильных мужчин было

выше в 2,4; 2,5; 3,17 и 2,5 раз соответственно. Не столь выраженное, но достоверно значимое превышение зарегистрировано для IFN- γ и IL-2 в спермальной плазме пациентов с патоспермией, разница с группой сравнения составляла 2,0 и 1,9 раз соответственно. Повышение в спермальной плазме пациентов с патоспермией уровня провоспалительных медиаторов, выполняющих функцию индукции апоптоза (TNF- α , IFN- γ), может приводить к снижению количества подвижных сперматозоидов, поскольку у этих мужчин доля астеноспермии в структуре отклонений показателей спермограммы составляла 91,3%.

Содержание иммунорегуляторных цитокинов у пациентов с отклонением показателей спермограммы от нормативных значений также было достоверно повышенным. Концентрации IL-4, IL-10 и фактора роста TGF- β в спермальной плазме были повышены относительно уровня здоровых мужчин в 1,2; 1,4 и 2,0 раза соответственно. Семенная жидкость человека в норме содержит большое количество TGF- β , обладающего общим иммуносупрессивным действием и играющего роль негативного регулятора иммунной системы. Повышение в спермоплазме пациентов с патоспермией уровня полифункционального цитокина TGF- β , а также IL-4 и IL-10, которые в норме ингибируют продукцию провоспалительных цитокинов и супероксидных радикалов, свидетельствует о выраженной направленности цитокиновой регуляции у этих пациентов на снижение выработки медиаторов воспаления.

Таким образом, проведенные исследования показали, что нарушение процесса сперматогенеза сопровождается увеличением локальной выработки как провоспалительных, так и иммунорегуляторных цитокинов.

При сравнении уровней медиаторов межклеточных взаимодействий в спермальной плазме пациентов 1-й и 2-й подгрупп из бесплодных пар и здоровых фертильных мужчин выявлено статистически значимое повышение концентрации IL-1 β , TNF- α , IL-8. Увеличение уровня провоспалительных цитокинов в пациентов 1-й подгруппы составило 2,1; 1,1 и 6,6 раз соответственно, 2-й подгруппы — 1,3; 1,2 и 5,7 раз соответственно. При оценке содержания иммунорегуляторных цитокинов у пациентов этих подгрупп зарегистрировано повышение концентрации IL-10 относительно аналогичного показателя в группе здоровых мужчин в 1,2 и 1,3 раза соответственно. Повышение уровня IL-10 на фоне гиперпродукции провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α , IL-8 отражает включение протекторных механизмов в ответ на индукцию локального воспалительного ответа.

У мужчин 3-й подгруппы с отклонениями от нормы показателей D/s и HDS, наряду с выявленными изменениями уровня цитокинов, характерными для пациентов 1-й и 2-й подгрупп, определялось повышение содержания в спермоплазме CRP и фактора роста TGF- β , концентрация которых в 1,6 и 1,9 раз превышала таковую у здоровых фертильных мужчин.

Таблица 1. Содержание медиаторов межклеточного взаимодействия в сыворотке крови мужчин из супружеских пар с бесплодием ($M \pm \sigma$)

Показатели	Группа сравнения (здоровые фертильные мужчины), (n=15)	Мужчины из супружеских пар с бесплодием, (n=99)			
		1-я группа (нормоспермия), (n=55)			2-я группа (патоспермия), (n=44)
		1-я подгруппа, (n=17)	2-я подгруппа, (n=19)	3-я подгруппа, (n=19)	
Провоспалительные					
IL-1 β , пг/мл	14,49 \pm 22,97	17,46 \pm 19,11	9,90 \pm 17,40	9,67 \pm 11,49	10,96 \pm 16,71
IL-2, пг/мл	14,32 \pm 1,57	22,1 \pm 16,89	13,575 \pm 4,519	14,49 \pm 5,31	15,76 \pm 5,23
IL-6, пг/мл	6,23 \pm 4,07	6,37 \pm 1,19	7,268 \pm 2,305	5,97 \pm 3,43	6,83 \pm 1,76
IL-8, пг/мл	9,63 \pm 3,75	41,32 \pm 33,53*	26,26 \pm 18,88*	38,3 \pm 33,77*	140,8 \pm 197,04*
IFN- γ , пг/мл	6,77 \pm 2,50	7,53 \pm 4,94	11,344 \pm 4,87*	12,18 \pm 5,67*	10,99 \pm 6,65*
TNF- α , пг/мл	56,07 \pm 30,67	47,65 \pm 22,17	62,35 \pm 41,13	100,43 \pm 53,59*	148,23 \pm 162,93*
CRP, нг/л	4,42 \pm 0,65	5,11 \pm 1,98	5,10 \pm 1,04	6,54 \pm 4,07	8,01 \pm 4,87
Имунорегуляторные					
IL-1RA, пг/мл	43,55 \pm 30,75	163,5 \pm 86,43*	121,16 \pm 38,19*	95,58 \pm 31,64*	105,34 \pm 37,14*
IL-4, пг/мл	2,71 \pm 1,76	1,89 \pm 0,21	2,61 \pm 1,89	2,17 \pm 1,02	2,81 \pm 1,88
IL-10, пг/мл	1,43 \pm 0,60	4,46 \pm 4,92*	1,10 \pm 0,64	1,17 \pm 0,55	1,97 \pm 2,47
TGF- β , пг/мл	41360 \pm 3263	35775 \pm 23028	36623 \pm 18425	47767 \pm 9699	45114 \pm 15840

Примечание. * — $p < 0,01$ в сравнении с группой здоровых мужчин.

Таблица 2. Содержание медиаторов межклеточного взаимодействия в спермальной плазме мужчин из супружеских пар с бесплодием (M±σ)

Показатели	Группа сравнения (здоровые фертильные мужчины), (n=15)	Мужчины из супружеских пар с бесплодием, (n=99)			
		1-я группа (нормоспермия), (n=55)			2-я группа (патоспермия), (n=44)
		1-я подгруппа, (n=17)	2-я подгруппа, (n=19)	3-я подгруппа, (n=19)	
Провоспалительные					
IL-1β, пг/мл	2,14±0,03	4,7±2,29*	2,69±0,89*	3,35±0,57*	5,03±5,45*
IL-2, пг/мл	24,16±0,65	24,20±1,68^	24,55±2,3^	28,24±8,67	46,3±39,48*
IL-6, пг/мл	8,2±0,21	11,25±2,75^	8,4±3,68^	10,37±6,06^	6,3±1,37*
IL-8, пг/мл	40,6±1,91	269,03±255,9^*	232,4±210,9^*	383,3±290,2^*	101,7±54,3*
IFN-γ, пг/мл	5,58±0,66	3,71±4,42^	5,44±5,07^	3,93±5,45^	11,01±6,65*
TNF-α, пг/мл	32,04±1,93	35,29±2,21^*	37,54±7,30^*	36,30±5,1^*	101,6±68,9*
CRP, нг/л	0,25±0,19	0,26±0,01^	0,33±0,04^	0,39±0,03^*	0,62±0,04*
Иммунорегуляторные					
IL-4, пг/мл	3,14±0,37	3,27±0,74	4,05±1,58	4,12±2,57	4,14±1,48*
IL-10, пг/мл	2,21±0,09	2,6±0,21^*	2,96±1,29*	5,94±2,35^*	3,1±0,92*
TGF-β, пг/мл	12380±314	11249±727	12955±2565	23163±1000*	24213±2465*

Примечание. * — $p < 0,01$ в сравнении с группой здоровых мужчин;
^ — $p < 0,01$ в сравнении с группой патоспермии.

Анализ результатов исследования медиаторов в спермальной плазме пациентов из супружеских пар с бесплодием относительно здоровых фертильных мужчин показал, что отличительными признаками, характерными для пациентов с нарушением репродуктивной функции, является усиление локальной продукции как медиаторов воспаления IL-1β, TNF-α и IL-8 так и иммунорегулятора IL-10, который играет важную роль в реализации противовоспалительных реакций. На фоне выявленных в цитокиновом звене признаков, общих для мужчин с бесплодием, у пациентов 3-й подгруппы с нарушением степени компактизации хроматина и увеличением относительного числа дефектных клеток в эякуляте отмечалась повышенная продукция в спермальной плазме ростового фактора TGF-β и увеличение концентрации CRP.

Заключение

Изучение продукции цитокинов и механизмов иммунологической регуляции процессов сперматогенеза позволяет получить информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток в зависимости от выраженности нарушений репродуктивной функции, о тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень, о соотношении процессов активации Т-хелперов 1-го и 2-го типов.

У мужчин с нормальными показателями спермограммы, не имеющих нарушений в организации хроматина сперматозоидов, отмечался

ряд изменений в продукции цитокинов на системном и локальном уровнях. В сравнении со здоровыми фертильными мужчинами зарегистрировано не только повышение концентрации IL-1, IL-8, TNF-α и IL-10 в спермоплазме, но и увеличение уровня IL-8 и IL-10 в сыворотке крови, что свидетельствует об индукции иммунного ответа на локальном уровне, несостоятельности механизмов ограничения воспалительного процесса на уровне тканей и выходе медиаторов воспаления и факторов регуляции воспалительной реакции в системное русло.

При снижении степени компактизации хроматина сперматозоидов и/или увеличении относительного числа дефектных клеток (2-я подгруппа) уровень цитокинов (IL-1, IL-8, TNF-α и IL-10) в спермоплазме, как и в 1-й подгруппе, оставался достоверно высоким, а в сыворотке крови, наряду с высоким содержанием IL-8, наблюдалось повышение концентрации IFN-γ, при этом уровень IL-10 не отличался от аналогичных показателей группы сравнения.

Аналогичные изменения в продукции сывороточных и спермальных цитокинов были отмечены у пациентов 3-й подгруппы с нормоспермией. В то же время выраженные нарушения в организации хроматина сперматозоидов и увеличение содержания дефектных клеток в эякуляте сопровождалось появлением новых лабораторных критериев, отражающих прогрессирование патологического процесса — повышением в спермоплазме уровня провоспалительного маркера CRP и ростового

фактора TGF- β и увеличением концентрации проапоптотического фактора TNF- α .

У мужчин с патоспермией изменения продукции цитокинов в сыворотке крови были аналогичны выявленным в 3-й подгруппе. Однако на локальном уровне, наряду с повышением уровня провоспалительных (IL-1, IL-8, TNF- α и CRP) и иммунорегуляторных (IL-10 и TGF- β) медиаторов отмечалось возрастание концентрации IL-2 и IFN- γ при достоверном снижении IL-6.

Результаты проведенных исследований показали, что в иммунологические события, сопровождающие процесс сперматогенеза, вовлечен ряд цитокинов. Ухудшение параметров структурной организации сперматозоидов и в последующем — отклонение от нормы показателей спермограммы, происходит на фоне активации иммунного ответа на локальном и системном уровне.

В результате повышения функциональной активности клеток (нейтрофилов, моноцитов/макрофагов, лимфоцитов, тромбоцитов, эндотелиоцитов), продуцирующих цитокины, происходит запуск каскада воспалительных реакций. При этом концентрация медиаторов воспаления повышается с нарастанием выраженности нарушений образования гамет, способных к полноценной передаче генетической информации. Провоспалительные цитокины являются наиболее агрессивными медиаторами воспаления в отношении наиболее чувствительной к патологическим воздействиям репродуктивной функции человека.

Кроме того, любая воспалительная реакция неразрывно связана с оксидативным стрессом. Гиперпродукция провоспалительных цитокинов на местном уровне способствует в дальнейшем увеличению синтеза белков острой фазы (CRP), что свидетельствует о выходе процессов иммунологической регуляции сперматогенеза за рамки первичных медиаторов и вовлечении вторичных медиаторов межклеточного взаимодействия, выработке большого количества свободных радикалов, избыточная концентрация которых в эякуляте считается источником появления разрывов в ДНК сперматозоидов и оказывает повреждающее воздействие на все клетки организма, в том числе клетки Сертоли, [10, 11, 12, 13]. Активация иммунной системы на локальном уровне в ответ на патологическое экзо- или эндогенное воздействие может служить пусковым фактором развития нарушений сперматогенеза.

Таким образом, о нарушении механизмов иммунологической регуляции процессов сперматогенеза на локальном уровне свидетель-

ствует превалирование воспалительного компонента над противовоспалительным, что способствует повреждению первичных барьерных структур в зоне воспаления и выходу воспалительных медиаторов в системный кровоток. Утрата защитной функции локального воспалительного ответа, доминирование деструктивных эффектов цитокинов и других медиаторов и нарастание эффектов системной альтерации, тем самым неспособность протекторных механизмов препятствовать дальнейшему прогрессированию патологического процесса приводит к нарушению репродуктивной функции и патоспермии.

Полученные данные позволяют внести вклад в изучение патогенеза нарушения репродуктивной функции мужчин с нормоспермией с позиций процессов иммунологической регуляции, и использовать наиболее информативные маркеры для повышения эффективности диагностики мужского бесплодия.

Литература

1. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. 4-е издание. М: Мед Пресс; 2001.
2. Быков В. А. Сперматогенез у мужчин в конце XX века. Проблемы репродукции 2000; 1:6-12.
3. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. С.-Петербург: ООО «Издательство Фолиант»; 2008.
4. Останин А. А., Черных Е. Р. Сравнительная оценка уровня 17 цитокинов в сыворотке и цельной крови здоровых доноров методом проточной флуориметрии. Цитокины и воспаление 2005; 4:25-32.
5. Устинов Д. В., Айзикович Б. И. Цитокины семенной плазмы и их роль в этиологии мужского бесплодия. Бюллетень СО РАМН 2008 (с. 1-ложение); 1:84-87.
6. Атюшев Г. П., Мотавкина Н. С. Лейкоцитарная и эпителиально-десквамативная реакция у больных урогенитальными инфекциями группы ИППП разной этиологии, страдающих бесплодием. Проблемы репродукции 2006; 6:44-46.
7. Koumantakis E., Matalliotakis I., Kyriakou D., Fragouli Y., Relakis K. Increased levels of interleukin-8 in human seminal plasma. Andrologia 1998; 30:339-43.
8. Айзикович Б. И., Айзикович И. В., Верба О. Ю., Козлов В. А. Роль цитокинов в регуляции сперматогенеза: современный взгляд на проблему. Иммунология 2008; 3:191-93.
9. Габбасов З. А., Тер-Аванесов Г. В. Новый метод объективного и быстрого определения основных показателей спермы. Проблемы репродукции 1999; 2:67-70.
10. Черний В. И., Нестеренко А. Н. Нарушения иммунитета при критических состояниях. Внутренняя медицина 2007; 3:16-34.
11. Seli E., Sakkas D. Spermatozoal nuclear determinants of reproductive outcome: implications for ART. Human Reproduction Update 2005; 11 (4):337-49.
12. Tamer M., Aziz N., Sharma R., Lewis-Jones I., Thomas A., Agarwal J. Novel association between sperm deformity index and oxidative stress-induced DNA damage in infertile male patient. Asian J Andrology 2005; 7(2):121-26.
13. Janeway C. A., Medzhitov R. Innate immune recognition. Ann Rev Immunol 2002; 20:197-16.