

**СВЯЗЬ ПАРАМЕТРОВ КОНЦЕНТРАЦИИ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ
С ПОКАЗАТЕЛЯМИ СПЕРМОГРАММЫ**

Максимюк Анна Васильевна

*канд. биол. наук, доцент Львовского национального медицинского
университета им. Д. Галицкого,
Украина, г. Львов
E-mail: hanna.maksymjuk@gmail.com*

Воробец Зиновий Дмитриевич

*д-р биол. наук, профессор Львовского национального медицинского
университета им. Д. Галицкого,
Украина, г. Львов
E-mail: vorobets@meduniv.lviv.ua*

**RELATIONSHIP BETWEEN INTERLEUKINS CONCENTRATIONS
AND SPERMOGRAM INDICATORS**

Maksymjuk Anna

*candidate of Biological Sciences, associate Professor,
Danylo Halytsky Lviv National Medical University,
Ukraine, Lviv*

Vorobets Zinovij

*doctor of Biological Sciences, Professor,
Danylo Halytsky Lviv National Medical University,
Ukraine, Lviv*

АННОТАЦИЯ

Результаты проведённых исследований свидетельствуют о повышенном уровне концентрации IL-6 и пониженном — IL-10 в сперме бесплодных мужчин. В эякулятах бесплодных мужчин установлена отрицательная коррелятивная связь концентрации IL-6 с объёмом спермы, а также

количеством живых сперматозоидов. Положительная коррелятивная связь зафиксирована между параметрами концентрации IL-6 и количеством подвижных половых клеток. Возможно, что уровни концентрации IL-6 можно использовать в качестве информативного маркера для диагностики бесплодия у мужчин.

ABSTRACT

The results of research conducted on the sperm of infertile men show a higher level of concentration of the IL-6 in its secrets and reduced level of the IL-10. We have identified a tendency to negative correlative relationship between the concentration of IL-6 and volume of ejaculate, the number of live spermatozoa of infertile men, and towards a positive relationship between the concentration of IL-6 and the number of motility germ cells. It is possible that concentrations of IL-6 can be used as reference markers for the diagnosis of male infertility.

Ключевые слова: спермальная плазма, спермограмма, IL-6, IL-10.

Keywords: seminal plasma, spermogram, IL-6, IL-10.

Введение. Согласно данным ВОЗ [15, с. 8] количество бесплодных браков в мире составляет 10—15 % от общего числа брачных пар и не имеет тенденции к уменьшению. Из 30 % от указанного числа стерильным оказывается только один. По этому поводу следует отметить, что роль мужчины в увеличении количества бесплодных пар, за последнее 20-тилетие составила 30—50 % и продолжает расти.

В настоящее время считают, что стресс, неполноценное питание, курение, алкоголь, химические факторы среды обитания отрицательно влияют на оплодотворяющий потенциал сперматозоидов. Помимо этого, увеличение количества бесплодных мужчин многие связывают с иммунологическим фактором. Тем не менее результаты лечения бесплодия свидетельствуют о том, что 40—60 % брачных пар все-таки могут иметь своих детей. Следовательно, при использовании приёмов своевременной диагностики и верной

интерпретации результатов лабораторных и экспериментальных исследований можно успешно решать проблемы бесплодных семей.

Известно, что интерлейкины синтезируются иммунными клетками семенников, интерстициальными клетками, клетками Сертоли и сперматогониями тканей органов половой системы мужчин и самцов животных. Понижение интенсивности их синтеза приводит к изменениям функциональной деятельности органов половой системы, что вызывает развитие бесплодия у мужчин [9, с. 5673]. Интерлейкины также стимулируют трансдукцию внутриклеточных сигналов, регулируют рост и дифференциацию зачаточных клеток, репродуктивную, нейроэндокринную и тестикулярную функции тканей половых органов. Кроме того, различные клетки репродуктивной системы продуцируют собственные интерлейкины, которые регулируют их секрецию.

Провоспалительный ИЛ-6 — мультифункциональный. Он относится к базовым медиаторам острой фазы воспалительной реакции. Содержится в различных биологических жидкостях, в частности в сперме. Продуцируют его клетки Сертоли. Определено [5, с. 520; 11, с. 131], что повышение концентрации интерлейкинов (ИЛ-6, ИЛ-8) в спермальной плазме связано с развитием воспалительных процессов в органах половой системы мужчин. При этом считают, что изменения содержания ИЛ-6 влияет на качество секретов спермы и полноценность сформированных половых клеток, в частности — сперматогенез [1, с. 243; 3, с. 61; 8, с. 233].

Концентрация ИЛ-10 моделирует экспрессию молекул медиаторов на поверхности клеток, которые имеют миелоидное происхождение; ИЛ-10 способен активизировать и поддерживать их иммунный и воспалительный ответ; существенно ингибирует продукцию ИЛ-6 и его синтез моноцитами. В первую очередь он эффективно блокирует продукцию ИЛ-4, что имеет заметное влияние на баланс развития патологических и защитных процессов в организме человека и животных. Принимает активное участие в восстановлении их равновесия [2, с. 98; 7, с. 45; 10, с. 1010].

Исходя из приведённых нами аргументов, цель исследования состоит в определении лимитов концентрации IL-6 и IL-10, параметры которых можно использовать для диагностики степени развития патологических и защитных процессов тканей органов половой системы мужчин.

Материал и методы исследований. Исследовали эякуляты 60 мужчин, которые на протяжении 2013—2014 гг. обращались в клинику по поводу бесплодия. Пробы спермы получали после 3—5 дней их удерживания от половых сношений. Средний возраст мужчин составлял $33 \pm 2,26$ года. Эякуляты 60 мин выдерживали в условиях комнатной температуры и, согласно рекомендациям ВОЗ [15, с. 34], проводили их оценку по стандартным показателям. После полного разжижения эякулята опытные образцы центрифугировали 20 минут при 3 000 об./мин. Супернатант хранили в морозильной камере при -20 °С. Концентрацию интерлейкинов определяли иммуноферментным методом (Stat-fax-303), согласно требованиям инструкции к набору реактивов фирмы «Вектор-Бест».

Результаты исследований анализировали по показателям объёма и вязкости секретов спермы, концентрации, количеству подвижных и живых сперматозоидов, а также концентрации интерлейкинов (IL-6, IL-10) в спермальной плазме. Полученную выборку показателей концентрации IL-6 разделили на три группы (I, II, III), в которых её средние значения соответственно составили $6,22 \pm 0,83$, $19,64 \pm 1,27$ и $74,06 \pm 6,81$ пг/см³. Для проведения статистического анализа использовали программу Microsoft Excel. Анализ показателей опытной и контрольной групп проводили с помощью t-теста.

Результаты исследований. В эякулятах бесплодных мужчин показатели концентрации IL-6 ($30,58 \pm 4,78$ пг/см³) в 6,6 раза выше ($p < 0,001$), нежели в здоровых ($4,62 \pm 0,56$ пг/см³). Однако следует отметить, что значения уровня концентрации IL-10 (рис. 1) противоположно обратные к IL-6. А именно, если в эякулятах группы бесплодных мужчин уровень концентрации IL-10 составляет $10,53 \pm 1,26$ пг/см³, то в группе плодных — его показатель в 1,4 раза

выше ($p < 0,01$), что в среднем составляет $14,60 \pm 1,51$ пг/см³. При этом лимиты изменений концентрации IL-6 и IL-10 составляют 3—6 и 11—20 пг/см³ соответственно.

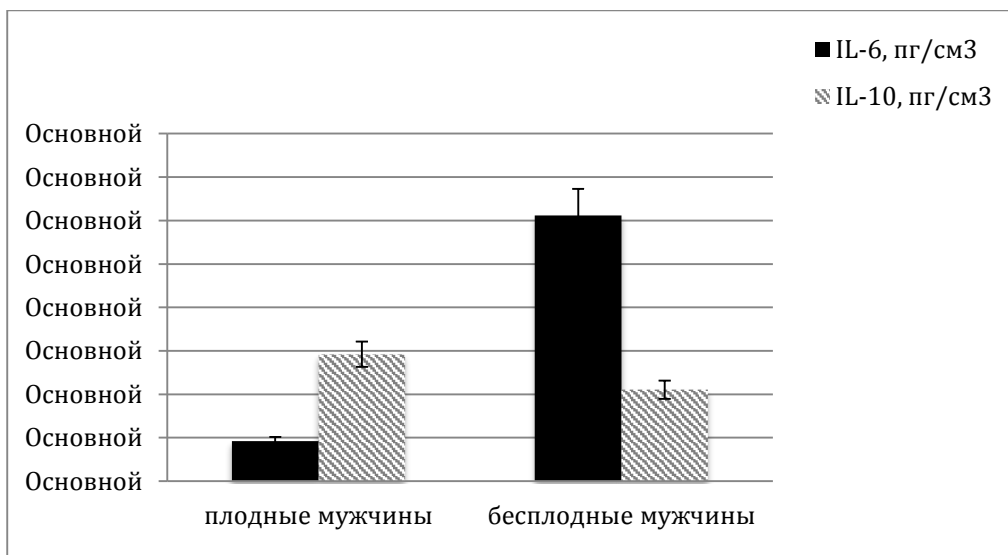


Рисунок 1. Уровни концентрации интерлейкинов в эякулятах плодных и бесплодных мужчин

Разделение исследованных эякулятов бесплодных мужчин на три группы (I — $(6,22 \pm 0,83)$, II — $(19,64 \pm 1,27)$, III — $(74,06 \pm 6,81$ пг/см³)) в зависимости от уровней концентрации IL-6 (рис. 2), свидетельствует о том, что значения концентрации противовоспалительного IL-10 у пациентов первой группы — наименьшие ($8,12 \pm 0,79$ пг/см³). Их средний показатель в эякулятах пациентов второй группы — несколько выше ($10,67 \pm 1,94$), а в третьей — в 1,5 раза выше, чем в первой и составляет $12,43 \pm 1,81$ пг/см³.

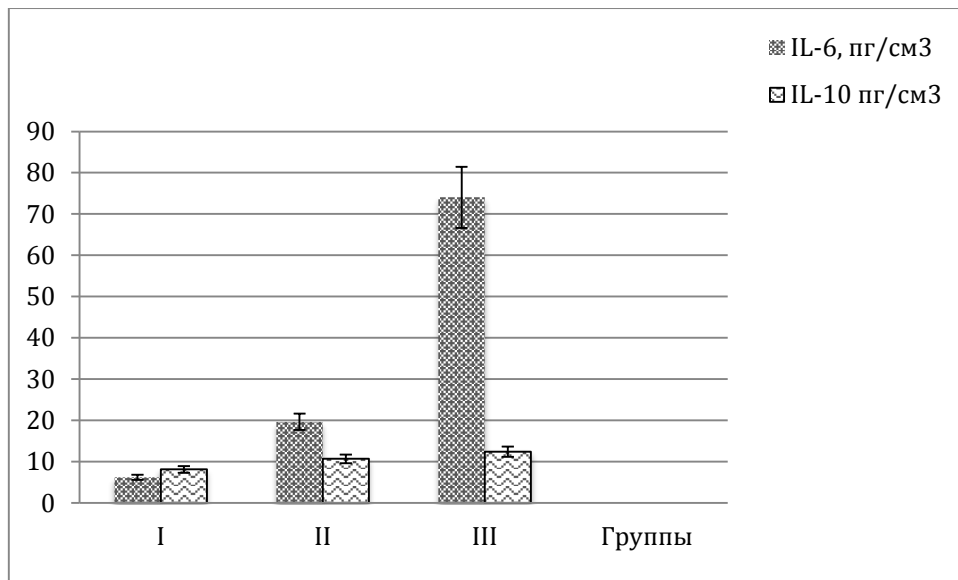


Рисунок 2. Уровни концентрации интерлейкинов в группах эякулятов бесплодных мужчин

Условия, которые сопровождают развитие патологического процесса в тканях репродуктивных органов мужчин, вызывают увеличение параметров концентрации IL-6 в 11,9 раза. Наибольшую разницу показателей IL-10 определили в эякулятах третьей опытной группы. То есть уровень концентрации IL-6 ($74,06 \pm 6,81$ пг/см³) в 5,9 раза выше уровня IL-10 ($12,43 \pm 1,81$ пг/см³). Установленное различие значений концентрации указывает на то, что тканям репродуктивных органов пациентов второй и третьей групп свойственна высшая врожденная или приобретенная степень защиты их организма от развития патологического процесса, чем первой. Вероятно, что это свойство обуславливает способность секреторных клеток половой системы человека синтезировать высокое количество противовоспалительного интерлейкина IL-10.

Показатели спермограммы бесплодных мужчин I—III групп (табл. 1) и прежде всего объёма и вязкости выделенных секретов, концентрации и количества подвижных и живых сперматозоидов свидетельствуют о том, что среднее значение объёма выделяемых эякулятов не выходит за лимит 3—4 см³. Наименьший показатель вязкости секретов спермы определили у пациентов третьей группы ($2,13 \pm 0,20$ мм). Среднее значение этого показателя в эякулятах второй группы составляет $2,82 \pm 0,31$ мм; первой — в 2,2 раза выше,

чем третьей ($4,67 \pm 0,28$ мм). Вероятно, следует считать, что высокие параметры концентрации ПЛ-10 уменьшают вязкость спермы.

Обозначенную особенность определили также для концентрации сперматозоидов. В эякулятах мужчин группы III её средний показатель ($43,81 \pm 4,53$) меньше, чем у группы II ($59,59 \pm 5,76$), а группы II меньше, чем группы I ($68,75 \pm 5,37$ млн/см³), что в 1,6 раза больше. Но при этом наименьшее количество подвижных (34 %) и живых (32 %) половых клеток отмечено у группы II. В эякулятах группы I и III их на 10—14 и 9—14 % больше.

Проведённый анализ данных статистики уровней концентрации ПЛ-6 и показателей спермограммы пациентов групп I, II, III указывает на возможность существования между ними отрицательной и положительной коррелятивной связей.

Таблица 1.

Показатели спермограммы бесплодных мужчин

Спермограмма	Стат. показатели	Группы эякулятов		
		I	II	III
объём эякулята, см ³	M±m	3,47±0,28	4,19±0,34	3,74±0,32
	r	-0,32	-0,21	-0,12*
вязкость спермы, мм	M±m	4,67±0,28	2,82±0,31	2,13±0,20
	r	-0,11	0,3**	-0,27*
концентрация сперматозоидов, млн/см ³	M±m	68,75±5,37	59,59±5,76	43,81±4,53
	r	0,37*	0,34*	-0,28
подвижные сперматозоиды (A+B), %	M±m	47,9±3,54	34,46±3,65	44,25±4,52
	r	0,30	0,45*	0,31
живые сперматозоиды, %	M±m	45,63±4,72	32,23±3,65	40,54±4,19
	r	-0,42	-0,05	0,17
концентрация ПЛ-10, пг/см ³	M±m	8,12±0,79	10,67±1,94	12,43±1,81
	r	-0,25*	0,14*	0,45**

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,1$ концентрации ПЛ-6 и между параметрами концентрации ПЛ-6 в группах.

Установленные показатели вероятности (* $p < 0,05$, ** $p < 0,1$) между концентрацией ПЛ-6 и вязкостью секретов спермы (группы II:III), концентрацией (группы I:II, II:III) и подвижностью (группы II:III) сперматозоидов, а также между концентрациями ПЛ-6 и ПЛ-10 (группы II:III,

III:1) указывают на положительную коррелятивную связь ($r= 0,3...0,45$). Во всех иных случаях её значения имеют отрицательный показатель ($r= -0,05...-0,42$).

Таким образом, интерлейкины играют центральную (базовую) роль в физиологических и патологических процессах органов половой системы мужчин, а именно: инициируют иммунновоспалительный каскад, модулируют нейроэндокринный контроль за деятельностью репродуктивной функции, выступают в роли локальных медиаторов влияния на половые гормоны и берут активное участие в регуляции сперматогенеза [12, с. 454; 13, с. 726], что указывает на возможность использования с диагностической целью показателей концентрации интерлейкинов в сперме бесплодных мужчин.

Из этих соображений повышенный уровень концентрации ИЛ-6 в эякулятах при пониженном количестве живых половых клеток, вероятно, стоит рассматривать в качестве веского признака для установления объективных параметров теста при определении бесплодия мужчин. Но согласно источникам [4, с. 162; 6, с. 451], параметры концентрации ИЛ-6 не указывают на наличие такой связи с функциональным состоянием сперматозоидов. Li Qian [et. al] [9, с. 5673] установили, что ИЛ-6 и ИЛ-8 влияют на подвижность сперматозоидов, однако не воздействуют на количество живых клеток в сперме. При таких условиях высокий уровень концентрации ИЛ-10 обнаружили только в эякулятах с высокими показателями концентрации и подвижности сперматозоидов. Эти наблюдения подтверждают результаты исследователей [14, с. 557], которые определили коррелятивную связь между уровнем концентрации ИЛ-10 и подвижностью сперматозоидов. То есть понижение концентрации противовоспалительного интерлейкина оказывает вредное влияние на качество спермы.

Выводы: Эякуляты бесплодных мужчин имеют повышенный уровень концентрации ИЛ-6 и пониженный ИЛ-10. Это свидетельствует о том, что концентрация провоспалительного ИЛ-6 в спермальной плазме имеет связь с развитием мужского бесплодия. Высокая концентрация противовоспалительного ИЛ-10 оптимизирует показатели спермограммы. Однако уровень

концентрации IL-6 — противоположный к показателям качества спермы, а именно к количеству живых сперматозоидов.

Уровень концентрации IL-10 имеет положительную тенденцию к её связи с показателями концентрации и подвижности сперматозоидов, что может играть очень важную роль в улучшении качества спермы. Поэтому в дальнейшем следует надеяться на возможность использования полученных показателей в качестве эффективных маркеров для определения объективности клинического диагноза бесплодных мужчин.

Список литературы:

1. Чуклин С.Н., Переяслов А.А. Интерлейкины. — Львов: Лига-Пресс, 2005. — 481 с.
2. Camejo M., Segnini A., Proverbio F. Interleukin-6 in seminal plasma of infertile men and lipid peroxidation of their sperm // Arch. Androl. — 2001. — № 47. — P. 97—101.
3. Diemer T., Hales D., Weidner W. Immune-endocrine interactions and Leyding cell function: the role of cytokines // Andrologia. — 2003. — № 35. — P. 55—63.
4. Dziadecki W., Celinska An., Fracki S. [et al.] Interleukin 6 and interleukin 8 concentrations in seminal plasma of male with seminogram abnormalities // Central European Journal of Immunology. — 2010. — № 35(3). — P. 162—167.
5. Eggert-Kruse W., Boit R., Rohr G. [et al.] Relationship of seminal plasma interleukin (IL)-8 and IL-6 with semen quality // Hum. Reprod. — 2001. — V. 16, № 3. — P. 517—528.
6. Furuya Y., Akash T., Fuse H. Soluble Fas and interleukin-6 and interleukin-8 levels in seminal plasma of infertile men // Arch. Androl. — 2003. — V. 49. — P. 449—452.
7. Huleihel M., Lunenfeld E., Horowitz S., [et al.] Involvement of serum and lipopolysaccharide in the production of interleukin-1- and interleukin-6-like molecules by human sperm cells // Am J. Reprod. Immunol. — 2000. — V. 43. — P. 41—46.

8. Legue F., Guitton N., Brouazin-Jousseau V. [et al.] IL-6 a key cytokine in vitro and in vivo response of Sertoli cells to external gamma irradiation // *Cytokine*. — 2001. — V. 16. — P. 232—238.
9. Li Qian, Qingxi Shi, Yang Gu [et al.] The relationship between IL-17 and male infertility: semen analysis // *African Journal of Microbiology Research*. —2012. — V. 6(27). — P. 5672— 5677.
10. Nallella K.P., Allamaneni S.S., Pasqualotto F.U. [et al.] Relationship of interleukin-6 with semen characteristics and oxidative stress in patients with varicocele // *Urol*. — 2004. — V. 64. — P. 1010—1013.
11. Nandipati K.C., Pasqualotto F.F., Thomas A.J., Agarwal Jr&A Relationship of interleukin-6 with semen characteristics and oxidative stress in vasectomy reversal patients // *Andrologia*. — 2005. — V. 37. — P. 131—134.
12. Sanocka D., Jedrzejczak P., Szumala-Kakol A., [et al.] Male genital tract inflammation; the role of selected interleukins in regulation of pro-oxidant and antioxidant enzymatic substances in seminal plasma // *J. Androl*. — 2003. — V. 24. — P. 448—455.
13. Sterzl I., Hampl R., Hill M., [et al.] Immunomodulatory cytokines in human seminal plasma correlate with immunomodulatory steroids // *Steroids*. — 2003. — V. 68. —P. 725—731.
14. Vera O., Vasquez L.A., Munoz M.G. Semen quality and presence of cytokines in seminal fluid of bull ejaculates // *Theriogenology*. — 2003. — V. 60. — P. 553—558.
15. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen / 5th ed. — 2010. — 265 p.