

ВМІСТ ІОНІВ ЛУЖНИХ МЕТАЛІВ ТА IL-6 І IL-10 У СПЕРМАЛЬНІЙ ПЛАЗМІ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

*Інститут сільського господарства Карпатського регіону

(м. Львів-Оброшино)

hanna.maksymjuk@gmail.com

Дана робота є фрагментом ПНД «Розробити систему комплексної оцінки життєздатності сперматозоїдів нативної і криоконсервованої сперми за біохімічними показниками», № держ. реєстрації 0111U005339.

Вступ. Відомо, що параметри концентрації про- і протизапальних інтерлейкінів пов'язані з діяльністю органів статевих систем чоловіків і жінок [11, 12, 16]. Встановлений факт, зокрема, стосується передачі сигналів реакції клітин на дію утворених продуктів запального процесу та їх ролі у регуляції внутрішньоклітинних комунікацій. Окрім участі інтерлейкінів у регуляції імунних сигналів, вагомим є те, що окремі поліпептиди можуть частково впливати на функціонування яєчок, ініціювати процес вивільнення із них стероїдів і брати активну участь у регуляції функцій сперматозоїдів.

Основними продуцентами інтерлейкінів є тестикулярні клітини Лейдига і Сертолі, перитубулярні і епітеліальні клітини придатків яєчок, міхурцевої і передміхурової залоз, імунокомпетентні клітини (лімфоцити, моноцити/ макрофаги, НК-клітини), які широко представлені усіма відділами системи статевих органів чоловіків [3, 5, 9]. Наведені нами ознаки вказують на те, що інтерлейкіни є модуляторами регуляторної діяльності відтворювальної функції людини і тварин. Однак, їх клінічна значимість ще до сьогодні залишається дискусійною.

Мета дослідження. Визначені параметри показників концентрації іонів лужних металів та молекул про- (IL-6) і протизапального (IL-10) інтерлейкінів скерували на вивчення і обґрунтування їх зв'язку з параметрами спермограми здорових і хворих чоловіків, що може мати шкодочинний вплив на запліднювальну здатність сперматозоїдів.

Об'єкт і методи дослідження. Досліджували еякуляти пацієнтів, які звертались у Комунальну клінічну лікарню швидкої медичної допомоги (м. Львів). Вік пацієнтів лікарні становив 27...35 років. Впродовж 2013...2014 рр. дослідили еякуляти 60 чоловіків, 15 з них були здоровими (контроль); 45 – хворими (дослід). Еякуляти оцінювали згідно вимог WHO [17]. В еякулятах визначали: показники спермограми (об'єм, рН, концентрацію та кількість рухливих і живих сперматозоїдів); показники концентрації іонів солей

лужних металів [1] і молекул інтерлейкінів у спермальній плазмі.

Для визначення концентрації інтерлейкінів відібраний об'єм сперми впродовж 20 хв за 600 г центрифугували. Супернатант відокремлювали від клітин. Відокремлений об'єм плазми зберігали у холодильній камері за -20°C . Згідно вимог інструкції до набору реактивів фірми «Вектор-Бест» імуноферментним методом визначали концентрацію IL-6 і IL-10. Результати досліджень аналізували за допомогою Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх обговорення. Наведені показники спермограми (табл.) пацієнтів клініки вказують на те, що параметри об'єму еякулятів неплідних чоловіків (3,90) в 1,2 разу вищі ніж плідних (3,22 cm^3). Показник рН у спермі неплідних і плідних чоловіків практично однакові (рН = 7,7 і 7,4). За цих обставин генеративні тканини яєчок неплідних чоловіків утворюють меншу кількість сперматозоїдів. В еякулятах хворих чоловіків показник їх концентрації (48) в 1,7 разу менший ніж здорових (81 $\text{млн}/\text{cm}^3$). В 2,4...2 разу нижчими є також показники кількості рухливих (30 проти 71%) і живих (32 проти 64%) клітин.

З метою обґрунтування зв'язку показників спермограми, гомеостазу іонів, концентрації інтерлейкінів та їх впливу на функціональну повноцінність сперматозоїдів у спермальній плазмі плідних і неплідних чоловіків, впродовж двох років визначали динаміку параметрів концентрації між показниками плідних і неплідних чоловіків, гомеостазу іонів солей лужних металів та концентрації інтерлейкінів. Спермальну плазму відокремлювали від сперматозоїдів. У відокремленій плазмі визначали параметри концентрації K^+ і Na^+ (рис. 1).

Наведені на рис. 1 дані визначених показників концентрації іонів солей лужних металів свідчать, що за умов розвитку запальних процесів у тканинах органів статевої системи чоловіків, рівень концентрації іонів калію у спермальній плазмі пацієнтів клініки був практично однаковим. Її середній показник у здорових і хворих чоловіків не виходив за межу ± 9 мМ. Незначне щодо еякулятів здорових чоловіків в 1,2 разу підвищення концентрації Na^+ виявили у хворих пацієнтів. Якщо середнє значення показника концентрації Na^+ у спермальній плазмі плідних чоловіків становить $52,55 \pm 4,02$, то у неплідних – $61,20 \pm 2,11$ мМ.

Таблиця
Спермограма еякулятів плідних і неплідних чоловіків (M ± m)

Об'єкти досліджень	Показники	Чоловіки	
		плідні (n=15)	неплідні (n=45)
сперма	об'єм, см ³	3,22 ± 0,33	3,90 ± 0,58
	pH	7,68 ± 0,12	7,37 ± 1,10
сперматозоїди	концентрація, н/см ³	80,80 ± 9,44	47,90 ± 1,65
	к-ть рухливих, %	70,71 ± 2,08	29,96 ± 2,86
	к-ть живих, %	64,46 ± 1,91	31,96 ± 2,71

З цього приводу слід зазначити, що зміна параметрів концентрації Na⁺ впливає на показник відношень концентрації Na⁺:K⁺. Величина вказаного показника у спермальній плазмі хворих чоловіків на одну частину вмісту Na⁺ більша ніж у здорових, що, відповідно, становить – 7:1 і 6:1.

На фоні визначених змін показників спермограми еякулятів та параметрів гомеостазу іонів у спермальній плазмі динаміка концентрації про- і протизапальних інтерлейкінів плідних і неплідних чоловіків має дуже суттєві зміни (рис. 2).

Так, якщо рівень концентрації IL-6 у спермальній плазмі плідних чоловіків становить 4,62 ± 0,56, то у неплідних – в 4,4 рази вищий і складає 20,33 ± 0,62 пг/см³. Однак значення показника концентрації протизапального інтерлейкіну IL-10 обернені до прозапального IL-6, а саме: у спермальній плазмі еякулятів здорових чоловіків рівень концентрації IL-10 в 1,4 рази вищий ніж у хворих (15 проти 11 пг/см³).

Результати сучасних досліджень свідчать, що сперма людини містить широкий спектр цитокінів, які впливають на якість сперми і функції сперматозоїдів. Але [6, 7] заявляють про дискусійність вказаного твердження. Тим не менше дослідники вважають, що прозапальні цитокіни, які продукуються лейкоцитами, у відповідь на дію чужорідних антигенів, чинників хронічного чи гострого запалення, можуть відігравати важливу роль у розвитку чоловічої неплідності. Зокрема, дослідження [4, 14, 15] вказують на те, що у спермальній плазмі асимптоматичних пацієнтів, виявлено підвищений рівень концентрації IL-6, що свідчить про наявність запального процесу у тканинах придаткових статевих залоз. Тому підвищений рівень концентрації IL-6 пов'язують з розвитком гострих запальних процесів [8, 16] та змінами інтенсивності генеративних процесів [5, 10].

Відомо також [2], що IL-10 відіграє ключову роль у регуляції балансу між розвитком патологічних змін і захисних процесів у тканинах і органах. Рівень його концентрації моделює експресію розчинних медіаторів і молекул клітинної поверхні, здатний активувати і підтримувати імунну та запальну відповіді клітин на шкодочинну дію.

Оскільки спермальна плазма неплідних чоловіків містить підвищений рівень IL-6 і знижену концентрацію IL-10, то слід сподіватися, що прозапальний інтерлейкін IL-6, який бере активну участь у регуляції розвитку чоловічої неплідності та протизапальний – IL-10, що

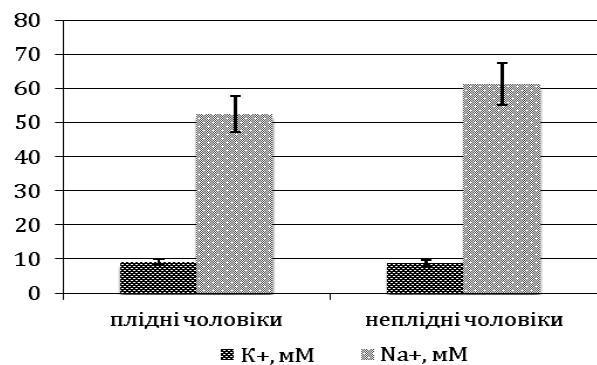


Рис. 1. Параметри концентрації K⁺ і Na⁺ спермальної плазми плідних і неплідних чоловіків.

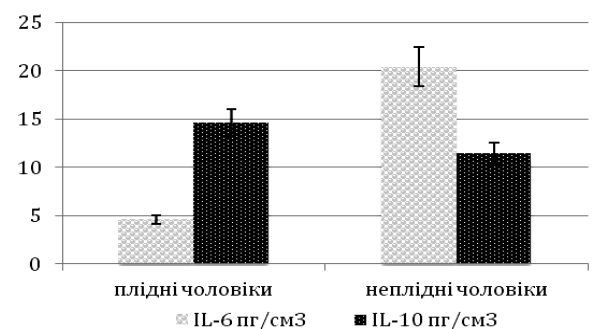


Рис. 2. Параметри концентрації IL-6 та IL-10 спермальної плазми плідних і неплідних чоловіків.

оптимізує показники спермограми еякулятів хворих чоловіків, відіграють важливу роль у покращенні якості виділеного еякуляту. Ймовірно також, що вимірювання цих біохімічних маркерів в майбутньому допоможе поставити об'єктивні клінічні діагнози неплідності хворим чоловікам.

Висновки. Таким чином результати досліджень особливостей зв'язку показників спермограми еякулятів плідних і неплідних чоловіків з параметрами концентрації іонів солей лужних металів та концентрації інтерлейкінів свідчать: реакція тканин органів статевої системи чоловіків на дію чинників (продуктів) запальних процесів – різна. Залежно від ступеня їх розвитку, виділені секрети придаткових залоз (спермальна плазма) мають тільки в 1,2 рази змінені параметри концентрації K⁺ (9,09 проти 8,79 мМ) і Na⁺ (53 проти 61 мМ). Але зміни параметрів концентрації інтерлейкінів IL-6 та IL-10 становить від 1,4... 4,0 рази і є обернений до її рівня в еякулятах здорових чоловіків, а саме: спермальна плазма здорових чоловіків містить низьку концентрацію IL-6 (5 проти 20 пг/см³) і високу IL-10 (15 проти 11 пг/см³).

Перспективи подальших досліджень. Зважаючи на той факт, що імунологічний фактор у розвитку неплідності зумовлений різними чинниками, вважаємо за доцільне й надалі продовжувати дослідження, результати яких слід спрямувати на вивчення особливостей зв'язку інших про- та протизапальних цитокінів з показниками спермограми еякулятів здорових і хворих чоловіків.

Література

1. Максимюк Г. В. Стандартизована методика визначення концентрації і переміщеної кількості Ca^{2+} , Na^+ , K^+ у системі «клітина-середовище» / Г. В. Максимюк, В. М. Максим'юк // Фізика живого. – 2011. – Т. 19, № 1. – С. 10-15.
2. Чуклин С. Н. Интерлейкины / С. Н. Чуклин, А. А. Переяслов. – Львов : Лига-Пресс, 2005. – 481 с.
3. Camejo M. Interleukin-6 in seminal plasma of infertile men and lipid peroxidation of their sperm / M. Camejo, A. Segnini, F. Proverbio // Arch. Androl. – 2001. – № 47. – P. 97-101.
4. Comhaire F. H. Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint / F. H. Comhaire, A. M. A. Mahmoud, C. E. Depuydt [et al.] // Hum. Reprod. – 1999. – Vol. 5. – P. 393-398.
5. Diemer T. Immune-endocrine interactions and Leyding cell function: the role of cytokines / T. Diemer, D. Hales, W. Weidner // Andrologia. – 2003. – № 35. – P. 55-63.
6. Dousset B. Seminal cytokine concentrations (IL-1beta, IL-2, IL-6, sR IL-2, sR IL-6), semen parameters and blood hormonal status in male infertility / B. Dousset, F. Hussenet, M. Daudin [et al.] // Hum. Reprod. – 1997. – Vol. 12 (7). – P. 1476-1479.
7. Dziadecki W. Vol. Interleukin 6 and interleukin 8 concentrations in seminal plasma of male with seminogram abnormalities / W. Dziadecki, An. Celinska, S. Fracki [et al.] // Central European Journal of Immunology. – 2010. – № 35 (3). – P. 162-167.
8. Eggert-Kruse W. Relationship of seminal plasma interleukin (IL)-8 and IL-6 with semen quality / W. Eggert-Kruse, R. Boit, G. Rohr [et al.] // Hum. Reprod. – 2001. – Vol. 16, № 3. – P. 517-528.
9. Furuya Y. Soluble Fas and interleukin-6 and interleukin-8 levels in seminal plasma of infertile men / Y. Furuya, T. Akash, H. Fuse // Arch. Androl. – 2003. – Vol. 49. – P. 449-452.
10. Huleihel M. Vol. Involvement of serum and lipopolysaccharide in the production of interleukin-1- and interleukin-6-like molecules by human sperm cells / M. Huleihel, E. Lunenfeld, S. Horowitz [et al.] // Am J. Reprod Immunol. – 2000. – Vol. 43. – P. 41-46.
11. Matalliotakis I. Vol. Distinct expression pattern of cytokines in semen of men with genital infection and oligo-terato-asthenozoospermia / I. Matalliotakis, A. Arici, A. Goumenou [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. – 2002. – Vol. 48 (3). – P. 170-175.
12. Nallega K. P. Relationship of interleukin-6 with semen characteristics and oxidative stress in patients with varicocele / K. P. Nallega, S. S. Allamaneni, F. U. Pasqualotto [et al.] // Urol. – 2004. – Vol. 64. – P. 1010-1013.
13. Nandipati K. C. Relationship of interleukin-6 with semen characteristics and oxidative stress in vasectomy reversal patients / K. C. Nandipati, F. F. Pasqualotto, A. J. Thomas, Jr & A. Agarwal // Andrologia. – 2005. – Vol. 37. – P. 131-134.
14. Sanocka D. Male genital tract inflammation; the role of selected interleukins in regulation of pro-oxidant and antioxidant enzymatic substances in seminal plasma / D. Sanocka, P. Jedrzejczak, A. Szumala-Kakol [et al.] // J. Androl. – 2003. – Vol. 24. – P. 448-455.
15. Sanocka-Maciejewska D., Ciupinska M., Kurpisz M. Bacterial infection and semen quality / D. Sanocka-Maciejewska, M. Ciupinska, M. Kurpisz // J. Reprod. Immunol. – 2005. – Vol. 67 (1-2). – P. 51-56.
16. Sterzl I. Immunomodulatory cytokines in human seminal plasma correlate with immunomodulatory steroids / I. Sterzl, R. Hampl, M. Hill [et al.] // Steroids. – 2003. – Vol. 68. – P. 725-731.
17. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. – 2010. – 265 p.

УДК 616. 155. 3-097. 36:616. 69-008. 8-074

ВМІСТ ІОНІВ ЛУЖНИХ МЕТАЛІВ ТА IL-6 І IL-10 У СПЕРМАЛЬНІЙ ПЛАЗМІ

Максимюк Г. В., Воробець З. Д., Максим'юк В. М.

Резюме. Дослідження сперми неплідних чоловіків свідчать про підвищений рівень у її секретах концентрації прозапального інтерлейкіну IL-6 і знижений протизапального - IL-10. Між параметрами концентрації інтерлейкіну IL-6 та спермограми (об'єм еякуляту, кількість живих сперматозоїдів) еякулятів неплідних чоловіків виявили тенденцію до негативного корелятивного зв'язку; до позитивного - між параметрами концентрації IL-6 та кількості рухливих сперматозоїдів. Ймовірно, що рівні концентрації IL-6 можна використати в якості інформативних маркерів для діагностування неплідності чоловіків.

Ключові слова: плідні і неплідні чоловіки, спермальна плазма, іони лужних металів, інтерлейкіни, спермограма.

УДК 616. 155. 3-097. 36:616. 69-008. 8-074

КОНЦЕНТРАЦІЯ ІОНОВ ЩЕЛОЧНИХ МЕТАЛЛІВ І IL-6 І IL-10 В СПЕРМАЛЬНІЙ ПЛАЗМІ

Максимюк А. В., Воробець З. Д., Максим'юк В. М.

Резюме. Исследования спермы бесплодных мужчин свидетельствуют о повышенном уровне концентрации провоспалительного интерлейкина IL-6 в её секретах и пониженном противвоспалительного - IL-10. Между параметрами концентрации интерлейкина IL-6 и показателями спермограммы бесплодных мужчин (объем эякулята, количество живых сперматозоидов) определили тенденцию к отрицательной коррелятивной связи; тенденцию к положительной связи - между параметрами концентрации IL-6 и количеством подвижных половых клеток. Возможно, что уровни концентрации IL-6 можно использовать в качестве информативных маркеров для диагностирования бесплодия мужчин.

Ключевые слова: плодные и бесплодные мужчины, спермальная плазма, ионы щелочных металлов, интерлейкины, спермограма.

UDC 616. 155. 3-097. 36:616. 69-008. 8-074

The Content of Alkali Metal Ions and IL-6, IL-10 in Sperm Plasma

Maksymjuk H. V., Vorobets Z. D., Maksymjuk V. M.

Abstract. Introduction. According to the WHO the percentage of infertile marriages is 10-15% and does not tend to decrease. However, in just 30% of the cases only one spouse is sterile. It is known that various exogenous factors

negatively affect the fertilizing capacity of sperm. Immunological factor plays significant role in the development of this problem. In particular, the concentration parameters of inflammatory and anti-inflammatory interleukins are related to the reproductive system activity of men and women. Standing fact concerns the transmission of signals in cells reaction to the products formed as the result of the inflammatory process and their role in the regulation of intracellular communication. It is known that interleukins are modulators of the regulation of male reproductive potential. However, their clinical significance on human reproductive functions even today remains controversial.

The aim of this study: Assess the diagnostic value of concentration parameters of alkali metal ion concentration and the level of IL-6 i IL-10 in spermal plasma of the fertile and infertile men.

Materials and methods. Ejaculates of 60 men were examined, who turned to the clinic about infertility during 2013-2014. The standard assessment of ejaculates was carried out in accordance with the WHO requirements. The concentration of IL-6 and IL-10 was determined by Stat-fax-303, using the sets from "Vector-Best". The content of alkali metal ions was determined using flame photometry method. The research results were also analyzed for volume, viscosity of the ejaculate, concentration of spermatozoa in 1 ml of ejaculate, the number of moving and living germ cells. Microsoft Excel was used for statistical data processing. The groups of data were compared using t-test.

Results and discussion. The spermal plasma of the infertile and fertile men was tested for K^+ , Na^+ , IL-6 and IL-10 content. The determined ion concentrations of alkali metal salts indicate that during the inflammation processes going in the tissues of the male reproductive system, the concentration of potassium ions in the plasma of patients stayed unchanged. Its average value among healthy men and patients did not go beyond the ± 9 mM range. Na^+ concentration in plasma of the fertile men was $52,55 \pm 4,02$, and $61,20 \pm 2,11$ mM in the infertile. It should be noted that the concentration dynamics in the pro- and anti-inflammatory interleukins of the fertile and infertile men changes significantly. Thus, while the IL-6 concentration in spermal plasma of the fertile men is $4,62 \pm 0,56$, it is $20,33 \pm 0,62$ pg/cm³ for the infertile men. However, the values of the concentration of anti-inflammatory interleukin IL-10 are inverse to the pro-inflammatory IL-6, namely: the concentration of IL-10 in spermal plasma of the healthy men is 15 pg/cm³, whereas it is 11 pg/cm³ for patients.

Conclusions. The research results show that, depending on the degree of inflammatory processes in men's reproductive system, K^+ concentration on the released secrets of adnexal glands changes for only 1.2 times (from 9.09 to 8.79 mM) and Na^+ (from 53 to 61 mM). While concentrations values of IL-6 and IL-10 vary from 4.0 to 1.4 times and are inverse to their values in healthy men semen, namely: spermal plasma of healthy men contains low concentration of IL-6 (5 vs 20 pg/cm³) and high concentration of IL-10 (15 vs 11 pg/cm³).

Keywords: fertile and infertile men, spermal plasma, alkaline metal ions, interleukins, spermogram.

Рецензент – проф. Шепітько В. І.

Стаття надійшла 26. 03. 2015 р.