

# Вплив лізату бактерій на морфогенез сперматозоїдів інфертильних чоловіків з хронічним запаленням уrogenітального тракту

С.Ю. Ціпоренко, Л.Ф. Матюха

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

Прерогативою первинної медичної допомоги є турбота про репродуктивне здоров'я, яке включає поряд з іншими питаннями лікування чоловічої безплідності. Поряд із причинами, що порушують репродуктивну здатність, забезпечення адекватних для запліднення частоти, ритму та техніки статевих актів, деякі деталі у сексуальному житті (передчасна еякуляція, перерваний статевий акт), які є складовою ескреторної безплідності, існують причини секреторної безплідності: запальні захворювання репродуктивної системи, спричинені інфекціями, що передаються статевим шляхом (ПСС) та становлять від 10% до 40%.

Комплексна медикаментозна протизапальна терапія за наявності уrogenітальних запальних процесів не завжди забезпечує стійкий терапевтичний ефект, оскільки її результати залежать від біологічних властивостей збудників, стану системи імунітету та природної резистентності пацієнта. Виходячи з цього, у сучасних умовах суттєва увага надається вивченню ефективності імуноактивних препаратів у лікуванні та медичній реабілітації хворих з хронічною уrogenітальною патологією.

**Мета дослідження:** вивчення варіантів морфотипу сперматозоїдів у сім'яній плазмі інфертильних чоловіків, які перенесли ПСС, та наявності зв'язку між диспропорцією субпопуляційного складу лейкоцитів сперми та змінами морфотипу сперматозоїдів, патогенетичне обґрунтування імунореабілітації чоловіків з хронічним запаленням уrogenітального тракту з використанням лізату бактерій *Escherichia coli*.

**Матеріали та методи.** Обстежено 88 чоловіків із хронічним запаленням уrogenітального тракту віком від 22 до 40 років. Усіх обстежених було розподілено на дві групи: I група (44 особи) – інфертильні чоловіки і II група (44 особи) – фертильні чоловіки. Тривалість безплідності у хворих I групи становила 3–6 років.

Метод полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) використовували для виявлення у сім'яній плазмі *Chlamidia trachomatis*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *V. herpes*. На початок обстеження пройшло більше року після завершення попереднього лікування. Проводили дослідження сперми та визначали морфологію сперматозоїдів, використовуючи фарбування за Папаніколау. Враховували концентрацію сперматозоїдів, рН сім'яної рідини, вміст лейкоцитів та їхніх субпопуляцій (гранулоцити, макрофаги, лімфоцити). Інфертильні чоловіки обстежувалися додатково після проведення курсу імунореабілітації.

Статистичний аналіз проводили на персональному комп'ютері за допомогою пакета програми «MedStat».

**Результати.** Пацієнти інфертильної групи (I група) характеризувалися достовірним зменшенням кількості моноцитів/макрофагів порівняно з контрольною групою і з нормативними показниками. Коливання кількості моноцитів/макрофагів у фертильних пацієнтів II групи було в межах нормативних показників. Водночас кількість лімфоцитів мала

зворотню тенденцію до достовірного збільшення у пацієнтів I групи порівняно з II групою та з нормативними показниками. Такий дисбаланс моноцитів/макрофагів та лімфоцитів у інфертильних чоловіків у сім'яній плазмі за відсутності лейкоцитоспермії свідчить про наявність інтимних механізмів порушення сперматогенезу та участі системи імунітету в цьому процесі.

Під час мікрометрії встановлено відмінність варіантів морфотипів сперматозоїдів у пацієнтів обох груп. Проте в інфертильних пацієнтів, незважаючи на нормальну кількість та рухливість сперматозоїдів, залишаються більш виражені морфологічні зміни, які характеризуються переважанням макросоматичних та гіперголівчатих форм сперматозоїдів. Результати проведення комплексної терапії інфертильних чоловіків із хронічним запаленням уrogenітального тракту показали, що включення лізату бактерій *Escherichia coli* в імунореабілітацію пацієнтів сприяє покращенню субпопуляційного складу лейкоцитів сперми та збільшенню запліднювального потенціалу.

**Заключення.** Діагностично важливим є як визначення морфотипових змін сперматозоїдів, так і визначення диспропорції субпопуляцій лейкоцитів у спермі при встановленні чоловічої безплідності. Це дає змогу застосовувати диференційований підхід як до лікування загальноприйнятими терапевтичними засобами, так і до диференційованої імунотерапії.

**Ключові слова:** сімейний лікар, чоловіча безплідність, запалення уrogenітального тракту, лізат бактерій *Escherichia coli*.

Сьогодні відмічається суттєве зростання хронічної патології органів уrogenітальної системи, яка зумовлена поєднаною бактеріально-вірусною інфекцією, причому така патологія реєструється частіше у чоловіків, ніж у жінок [8]. Дана проблема стосується усіх чоловіків молодого віку [9], що пов'язано з впливом екологічно шкідливих чинників довкілля, чисельністю статевих контактів з жінками, які інфіковані хламідіями, мікоплазмами, уреоплазмами та вірусами герпетичної групи, а також з погіршенням соціальних та побутових умов проживання населення [14].

Запалення уrogenітального тракту, яке викликане інфекційними агентами, що передаються статевим шляхом, може зменшувати якість життя, працездатність. Клінічний досвід свідчить, що сьогодні переважають латентні та персистуючі форми перебігу уrogenітальних інфекцій, що суттєво ускладнює їхню своєчасну діагностику [19]. Водночас статеві бактеріально-вірусні інфекції часто залишаються не розпізнаними, оскільки мають мізерну клінічну симптоматику або взагалі її не мають, тому уражені чоловіки не звертаються за медичною допомогою, тоді як патологія прогресує і може розвиватися і часто ускладнюється розвитком інфертильності.

Мікроорганізми, які інфікують сперму, як правило персистують у сечовивідних шляхах, можуть передаватися при статевому контакті. Частіше із сперми виділяють інфек-

ційні агенти – хламідії (*Chlamidia trachomatis*), уреоплазми (*Ureaplasma urealyticum*) та мікоплазми (*Mycoplasma hominis*). Необхідно відмітити, що наявність інфекційних агентів в уrogenітальному тракті часто корелює зі зниженою кількістю сперми і вважається однією з вагомих причин (до 50–60%) безплідності подружніх пар [5].

Чоловіча сперма містить не лише сперматозоїди, але й популяції несперматозоїдних клітин, переважно це лейкоцити. Активізація білих кров'яних клітин у сім'яній плазмі у разі запалення генітального тракту та клітинні реакції протимікробних агентів можуть провокувати вивільнення низки продуктів, таких, як цитокіни та реактивні кисневі сполуки [15, 21]. Як свідчить дослідження [13], низка цитокінів (ЦК): інтерлейкін (ІЛ)-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8 та фактор некрозу пухлин (ФНП)- $\alpha$ , які визначаються у сім'яній плазмі у разі запалення генітального тракту можуть вважатися медіаторами між порушеними параметрами сім'яної плазми та зміненими рівнями прооксидантних та антиоксидантних субстанцій.

Низка даних свідчить, що функціонування прооксидантних та антиоксидантних систем у спермі може впливати на основні параметри сперми. Підвищені рівні лейкоцитів у спермі при запаленнях чоловічого статевого тракту без асоційованого впливу цитокінів та антиоксидантної системи сперми, як виявилось, мають низьку прогностичну цінність в оцінюванні чоловічого запліднювального потенціалу.

У чоловіків з наявністю хронічної уrogenітальної інфекції (хламідійно-вірусної) було зареєстровано суттєве зростання концентрації низки ЦК: ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-5, ІЛ-6, ІЛ-13, ІЛ-17,  $\alpha$ -інтерферон (ІФН) та у меншому ступені – ІЛ-2, ІЛ-10, ІЛ-12, ФНП- $\alpha$ ,  $\gamma$ -ІФН. Підвищені рівні цих медіаторів запалення свідчать про залучення імунних факторів для захисту чоловічого генітального тракту. Основними джерелами ЦК у чоловічих гонадах є тестикулярні макрофаги, хоча низка ЦК (ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6) також продукується клітинами мережі яєчка, включаючи клітини Лейдига та Сертолі. У нормі в чоловічих гонадах ЦК діють як імуномодулятори, тоді як надмірне збільшення їхньої концентрації у спермі під час інфекції викликає пошкодження тканини і тісно пов'язана із супутньою лейкоцитоспермією і зменшенням якісних семіологічних параметрів.

Отже, персистенція інфекційного фактора та локальні пошкодження тканини внаслідок розвитку запального процесу призводять до інфільтрації лейкоцитами місця запалення, які запускають імунну відповідь, скеровану проти інфекційного агента, і одночасно активують секрецію біологічних субстанцій, посилюючи запалення. Підвищені рівні лейкоцитів у спермі за наявності хронічного запального процесу у чоловічому статевому тракті без асоційованого впливу ЦК та антиоксидантної системи можуть мати прогностичну цінність в оцінюванні ступеня клініко-лабораторної ремісії, яку досягли під час лікування, а також чоловічого запліднювального потенціалу [20].

Згідно з критеріями ВООЗ, кількість лейкоцитів понад  $1 \times 10^6$  лейкоцитів на 1 мл у спермі, класифікується як лейкоцитоспермія та асоціюється з пошкодженою функцією сперми та інфертильністю [7].

Наявність лейкоцитів у спермі не є патологічною *per se*, оскільки в кожному еякуляті присутні лейкоцити. Середня кількість лейкоцитів у спермі здорового чоловіка становить приблизно  $17 \times 10^4$ /мл сім'яної плазми (50–60% гранулоцитів, 20–30% макрофагів, 2–5% Т-лімфоцитів) [22]. Більшість авторів погоджується, що визначення кількості лейкоцитів у спермі є важливим, але не суттєвим у визначенні інфекції чи запалення у чоловічому репродуктивному тракті [11]. Окрім цього, саме рівень активності лейкоцитів визначає фінальний ефект оксидативного стресу на сперматозоїди [16].

Походження лейкоцитів у спермі при нормальному фізіологічному стані пояснюється досить важко. Проте припускають, що під впливом незапальних факторів макрофаги та лімфоцити потрапляють у сперму з придатка яєчка чи мережі яєчка, а гранулоцити надходять із передміхурової залози та сім'яного канатика [12]. Під час запалення білі кров'яні клітини потрапляють у сперму з місця інфікування чи запалення [6]. Беручи до уваги той факт, що сперма пошкоджується активованими лейкоцитами (та їхніми продуктами) протягом тривалого часу під час її магурації, найбільшого пошкодження зазнають сперматозоїди під час орхіту, епідидиміту та простатиту [17]. З іншого боку, низка досліджень чітко продемонструвала тісний зв'язок між простатитом та потенційною інфертильністю навіть за відсутності бактерій [1].

Вивчення особливостей морфотипу сперматозоїдів у чоловіків з безплідністю виявляє певну мономодальність у його відхиленнях. Це дозволяє зробити припущення про те, що зміни нейрогормонального контролю різного рівня розвитку гамет залишає свій «відбиток» на їхньому морфотипі залежно від періоду спермоутворення.

Слід підкреслити, що до сьогодні практично не розроблені ефективні методи медичної реабілітації реконвалесцентів із хронічною уrogenітальною інфекцією. Тому нашу увагу привернув сучасний імуноактивний препарат, який містить лізат бактерій *Escherichia coli* при імунореабілітації чоловіків з хронічним запаленням уrogenітального тракту [18].

Встановлено, що лізат бактерій *Escherichia coli* є імуностимулюючим агентом, який чинить наступну дію: стимулює Т-лімфоцити, індукуює виробництво ендogenous інтерферону та збільшує вміст імуноглобуліну А (ІgА) [3]. Отже, дивлячись на фармакологічні ефекти лізату бактерій *Escherichia coli* ми вважаємо доцільним вивчення його ефективності у хворих з хронічним запаленням уrogenітального тракту. Під впливом препарату активуються фагоцитарні механізми імунної реактивності – як з боку нейтрофільних гранулоцитів, так і макрофагальної моноцитарної ланки імунної відповіді, посилюється продукція факторів природної антиінфекційної резистентності, оптимізується синтез прозапальних та протизапальних ЦК [10].

**Мета дослідження:** вивчення варіантів морфотипу сперматозоїдів у сім'яній плазмі інфертильних чоловіків, які перенесли інфекції, що передаються статевим шляхом (ІПСШ), та наявності зв'язку між диспропорцією субпопуляційного складу лейкоцитів сперми та змінами морфотипу, патогенетичне обґрунтування імунореабілітації хворих на малосимптомні форми хронічної уrogenітальної інфекції з використанням імуноактивного препарату, який містить лізат бактерій *Escherichia coli*.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Було вивчено 88 зразків сперми двох груп чоловіків:

- I група (44 особи) – інфертильні чоловіки, в анамнезі яких були ІПСШ;
- II (контрольна) група (44 особи) – фертильні чоловіки, в анамнезі яких також були ІПСШ.

Тривалість безплідності становила 3–6 років. Вік обстежених – 22–40 років. На початок обстеження пройшло більше року після завершення попереднього лікування. Усіх пацієнтів обстежували клінічно, включаючи огляд та пальпацію статевого члена, мошонки та передміхурової залози, а також ретельно збирали анамнез. Усі пацієнти здавали сперму для аналізу. Інфертильні чоловіки обстежувалися додатково після проведення курсу імунореабілітації. Напередодні здачі аналізу не повинно було відбуватися еякуляції протягом 4–5 днів. Пацієнти перед здачею аналізу випускали сечу. Забір матеріалу здійснювали у спеціальній кімнаті шляхом мастурбації у пластикову банку. Аналіз сперми проводили через 30 хв після еякуляції та згідно з інструкцією ВООЗ. Врахову-

Субпопуляції лейкоцитів у спермі

Субпопуляції лейкоцитів, %	Середній показник (за Wolff et al.)	I група (n=44), Me±m	II група (n=44), Me±m
Гранулоцити	50–60	62,67±2,01* (58,42;72,76)	49,84±1,57 (47,56;57,34)
Моноцити/макрофаги	20–30	11,67±0,93** (10,56;12,90)	18,04±0,98 (17,53;18,87)
Лімфоцити	5–10	13,45±0,53** (12,34;14,34)	9,09±0,42 (7,23;9,34)

Примітка: \* – вірогідність різниці показників вирахована між показниками груп та нормою при  $p < 0,05$ ; \*\* – вірогідність різниці показників вирахована між показниками груп та нормою при  $p < 0,01$ . У дужках наведено ліву та праву межі 95% довірчого інтервалу оцінки медіани.

Таблиця 2

Варіанти морфотипів сперматозоїдів

Морфотипи сперматозоїдів	Кількість випадків	
	I група	II група
Макросоматичний	3	1
Мікросоматичний	14	2
Гіпоакросомний	2	2
Гіперголівчатий	11	1
Нормосоматичний	14	38

вали концентрацію сперматозоїдів, рН сім'яної рідини, вміст лейкоцитів та їхніх субпопуляцій (гранулоцити, макрофаги, лімфоцити). Для визначення морфології використовували фарбування за Папаніколау. На підставі мікрометрії виділяли такі варіанти морфотипу сперматозоїдів [2]:

- макросоматичний – довжина сперматозоїда більша 60 мкм;
- мікросоматичний – довжини сперматозоїда менша 50 мкм;
- гіпоакросомний – співвідношення довжини ядра до довжини голівки сперматозоїда більше 0,6;
- гіперголівчатий – співвідношення довжини хвоста до довжини голівки сперматозоїда менше 10,0;
- круглоголівчатий – співвідношення ширини голівки сперматозоїда до його довжини більше 0,7.

Усі інфертильні чоловіки (44 особи) отримували курс імунореабілітації, причому 22 пацієнтам було призначено використовували препарат, який містить лізат бактерій *Escherichia coli*, по одній капсулі на добу протягом 1 міс; решта 22 пацієнта приймали загальноприйняте лікування – аевіт, фізіотерапію.

Статистичний аналіз проводили на персональному комп'ютері за допомогою пакета програми «MedStat» [4]. При цьому для перевірки показників на нормальний розподіл використовували критерій W. Шапіро-Уїлка. Обчислювали медіану, 25% квантиль, 75% квантиль, довірчі інтервали. Для порівняння показників використовували критерій  $\chi^2$ , двосторонню критичну область. Для порівняння середніх значень ознаки для двох незалежних вибірок використовували метод кутового перетворення Фішера з урахуванням поправки Йейтса. Достовірно вважали різницю при  $p < 0,01$ . Для аналізу наявності та сили зв'язку розраховували коефіцієнт парної кореляції Кендала –  $\tau$ . Під час кількісної оцінки ефекту лікування проводили обчислення наступних показників: зниження абсолютного ризику (ЗАР), зниження відносного ризику (ЗВР) та число хворих, яких необхідно лікувати (ЧХНЛ).

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Критерії включення пацієнтів у дослідження:

- відсутність запальної лейкоцитарної реакції та патологічної мікрофлори у сечовидільному каналі, секреті передміхурової залози, у секреті сім'яників та спермі;
- в анамнезі – наявність ІПСШ від 1 до 6 років тому;
- результати клініко-лабораторного видужання були підтверджені бактеріоскопічним, бактеріологічним, культуральним та ПЛР-методами.

Дослідження субпопуляцій лейкоцитів в обстежених пацієнтів у спермі продемонстровано у табл. 1.

Як свідчать результати дослідження, пацієнти інфертильної групи (I група) характеризувалися достовірним зменшенням кількості моноцитів/макрофагів ( $11,67 \pm 0,93$ ;  $p < 0,01$ ) порівняно з контрольною групою і з нормативними показниками. Коливання кількості моноцитів/макрофагів у фертильних пацієнтів II групи було у межах нормативних показників. Водночас кількість лімфоцитів мала зворотню тенденцію щодо достовірного збільшення ( $13,45 \pm 0,53$ ;  $p < 0,01$ ) у пацієнтів I групи порівняно з II групою та з нормативними показниками. Такий дисбаланс моноцитів/макрофагів та лімфоцитів у інфертильних чоловіків у сім'яній плазмі за відсутності лейкоцитоспермії ( $0,41 \pm 0,02$  млн/мл; норма ВООЗ – до 1,0 млн/мл), свідчить про користь наявності інтимних механізмів порушення сперматогенезу та участі системи імунітету у цьому процесі.

Під час дослідження лейкограми у спермі пацієнтів першої групи встановлено різнопланові порушення пропорцій субпопуляцій лейкоцитів. Так, у частини хворих (25 осіб) спостерігалася тенденція до збільшення гранулоцитів у спермі (достовірність різниці вирахована при  $p < 0,001$ ). Водночас, в 11 осіб кількість гранулоцитів достовірно не відрізнялася від нормативних показників. Дослідження лімфоцитів у пацієнтів I групи показало також різноспрямовані порушення: у 10 пацієнтів їхня кількість достовірно не відрізнялася від нормативних показників, у той самий час, у

31 пацієнта цей показник був набагато більшим порівняно з нормою ( $p < 0,001$ ).

Під час мікрометрії встановлено відмінність варіантів морфотипів сперматозоїдів у пацієнтів обох груп (табл. 2).

Особливості морфотипу сперматозоїдів зумовлені дисфункцією різних рівнів їхнього утворення та дозрівання. Вочевидь, наявність макросоматичних спермій пояснюється недостатністю мітогичного поділу сперматогоній, подовженням фази їхнього росту, під час якої вони, різко збільшуючись у розмірах, перетворюються у сперматоцити першого порядку, які трансформуються у подальшому в макросоматичні сперматозоїди [2].

Мікросоматичний морфотип, ймовірно, зумовлений скороченням періоду росту сперматоцитів у зв'язку з передчасним утворенням стреспептидів. Гіпоакросомія пов'язана з тим, що у період диференціювання гамет та гаплоїдних сперматид відбувається послідовна фазова перебудова структури ядра та цитоплазматичних елементів, яка закінчується остаточним формуванням акросоми та «упаковуванням» ядерного хроматину, яке проявляється одноmodalним співвідношенням між ядром та акросомою. Тому порушення цього співвідношення можна зв'язати з дисфункцією на рівні диференціювання.

Гіперголівчатий морфотип, як відомо, характеризується морфологічними ознаками недостатньої зрілості сперматозоїдів, а саме: резидуальна протоплазія, цитоплазматична крапля та вкорочення хвоста. При дисфункціональній гіпофертильності вони практично не спостерігаються. Це можна пояснити тим, що дозрівання сперматозоїдів у придатку яєчка відбувається у декілька етапів. Спочатку спостерігається перехід на зовнішнє живлення (втрата протоплазми та краплі), згодом змінюється імунний покрив (мімікрія) та, нарешті, набуваються антикапацітаційні властивості – фаза остаточного дозрівання сперматозоїдів, під час якої відбувається ущільнення акросоми, що, власне, й визначає співвідношення між довжинами голівки та хвоста.

На останньому етапі знаходження у придатку яєчка сперматозоїди проходять селекцію – неповноцінні мітаються убівітином та, як правило, фагоцитуються. Отже, дисфункціональна гіпофертильність дає про себе знати на останніх етапах матурації, що проявляється гіперголівчатим морфотипом сперматозоїдів. Як видно з табл. 2, нормосоматичний варіант у пацієнтів I групи спостерігався у 14 випадках, у пацієнтів II групи – у 38 випадках (відмінність частки є статистично значущою при  $p < 0,001$ ). Отже, в інфертильних пацієнтів, незважаючи на нормальну кількість та рухливість сперматозоїдів, залишаються морфофункціональні зміни, які і визначають запліднюючий потенціал чоловіка.

Під час дослідження кореляційних взаємозв'язків було встановлено, що у пацієнтів I групи існує зв'язок між наявністю морфотипових змін сперматозоїдів та дисбалансом субпопуляцій сперматозоїдів. Так, у групі пацієнтів із підвищеним рівнем лімфоцитів спостерігався позитивний зв'язок з мікросоматичним морфотипом спермограм, коефіцієнт кореляції Кендала  $\tau = 0,33$  (коефіцієнт кореляції відмінний від 0 на рівні  $p < 0,01$ ). Негативний кореляційний зв'язок встановлено між рівнем моноцитів/макрофагів та гіперголівчатим морфотипом спермограм,  $\tau = -0,49$  (коефіцієнт кореляції відмінний від 0 на рівні  $p < 0,01$ ).

Отримані кореляційні зв'язки свідчать про те, що білі кров'яні клітини беруть безпосередню участь у сперматогенезі на всіх його етапах, зміни у диспропорції популяцій лейкоцитів ведуть до порушення концентрації продуктів їхнього метаболізму, а значить і до змін мікрооточення генеративних клітин. Надлишок певних цитокінів та низки інших біологічно активних сполук, які виділяють активовані лімфоцити, скорочують період росту спер-

матоцитів, проявом чого є мікросоматичний морфотип. Водночас зниження концентрації продуктів метаболізму моноцитів/макрофагів супроводжується недостатнім дозріванням сперматозоїдів, неповноцінні гамети не елімінуються у повному обсязі макрофагами. Цим, напевно, і можна пояснити наявність негативного кореляційного зв'язку між підвищеним рівнем гіперголівчатих сперматозоїдів та кількістю моноцитів/макрофагів. Негативний вплив на процеси матурації здійснюють й підвищені рівні гранулоцитів.

Медичну реабілітацію проводили 44 інфертильним чоловікам, в яких було встановлено дисбаланс субпопуляцій лейкоцитів у спермі. При цьому вивчали ефективність та перспективність використання у чоловіків (22 особи – 50,0%) з малосимптомними формами урогенітальної інфекції препарату, який містить лізат бактерій *Escherichia coli*. Група контролю (22 особи – 50,0%) отримувала загальноприйняті засоби (аевіт, озокеритотерапія, фонофорез).

Зміни субпопуляційного складу лейкоцитів в обох групах були однотиповими ( $p > 0,01$ ). Повторне дослідження сперми після проведення курсу імунореабілітації встановило тенденцію до покращання дисбалансу субпопуляцій лейкоцитів у більшості пацієнтів I групи. Так, у 19 (86,36%) осіб I групи кількість гранулоцитів, моноцитів та лімфоцитів нормалізувалася. У решти (3 особи – 13,64%) кількість лімфоцитів залишалася дещо вище норми ( $11,34 \pm 0,43$ ;  $p < 0,05$ ). Мікроспермометрія у цих пацієнтів показала мікросоматичний морфотип сперматозоїдів.

У хворих контрольної групи також була відмічена позитивна динаміка покращання субпопуляційного складу лейкоцитів у спермі, але суттєво менша, ніж у пацієнтів I групи. Нормалізація субтипів лейкоцитів відбулася лише у 6 (27,27%) осіб. Повторне дослідження сперми для з'ясування питання тривалості імуностимулювального ефекту лізату бактерій *Escherichia coli* проводили 12 пацієнтам через 6 та 12 міс після лікування. У 3 (25,0%) пацієнтів спостерігали відновлення дисбалансу лейкоцитів, що було підставою для проведення додаткового курсу імунореабілітації лізатом бактерій *Escherichia coli*.

Проводячи кількісне оцінювання ефекту імунореабілітації препаратом, що містить лізат бактерій *Escherichia coli*, у хворих на малосимптомні форми урогенітальної інфекції встановлено, що запропонований метод знижує неефективність лікування (ЗАР) на 42,4% (інтервальна оцінка: 15,0–64,4%;  $p = 0,05$ ) порівняно із загальноприйнятими методами. Новий метод лікування знижує ризик неефективності лікування (ЗВР) у 4,05 рази (інтервальна оцінка: 1,61–10,20 рази;  $p = 0,05$ ) порівняно із контрольним методом лікування, причому кількість хворих, яких необхідно пролікувати (ЧХНЛ) становить 2,4 чоловіка (інтервальна оцінка: 1,6–6,7 чоловіка;  $p = 0,05$ ), тобто слід пролікувати 2–3 особи, щоб отримати додаткового вилікуваного хворого порівняно зі стандартним методом імунореабілітації.

## ВИСНОВКИ

1. Діагностично важливими є визначення морфотипових змін сперматозоїдів та диспропорції субпопуляцій лейкоцитів у спермі при встановленні чоловічої безплідності. Це дає змогу застосовувати диференційований підхід як до лікування загальноприйнятими терапевтичними засобами, так і до диференційованої імунотерапії.

2. Включення препарату, який містить лізат бактерій *Escherichia coli* в імунореабілітацію чоловіків із малосимптомними формами урогенітальних інфекцій сприяє покращанню субпопуляційного складу лейкоцитів сперми та збільшенню запліднюючого потенціалу.

**Влияние лизата бактерий на морфогенез сперматозоидов инфертильных мужчин с хроническим воспалением уrogenитального тракта**  
**С.Ю. Ципоренко, Л.Ф. Матюха**

Прерогативой первичной медицинской помощи является забота о репродуктивном здоровье, которое включает наряду с другими вопросы лечения мужского бесплодия. Вместе с причинами, нарушающими репродуктивную способность, обеспечение адекватных для зачатия частоты, ритма и техники полового акта, некоторые детали в сексуальной жизни (преждевременная эякуляция, прерванный половой акт), которые являются составной частью эректильного бесплодия, существуют причины секреторного бесплодия, среди которых воспалительные заболевания репродуктивной системы, вызванных инфекциями, передающимися половым путем (ИППП) и составляют от 10% до 40%.

Комплексная медикаментозная противовоспалительная терапия при уrogenитальных воспалительных процессах не всегда обеспечивает устойчивый терапевтический эффект, поскольку ее результаты зависят от биологических свойств возбудителей, состояния системы иммунитета и естественной резистентности пациента. Исходя из этого, в современных условиях существенное внимание уделяется изучению эффективности иммуноактивных препаратов в лечении и медицинской реабилитации больных с хронической уrogenитальной патологией.

**Цель исследования:** изучение вариантов морфотипа сперматозоидов в семенной плазме инфертильных мужчин, перенесших ИППП, и наличия связи между диспропорцией субпопуляционного состава лейкоцитов спермы и изменениями морфотипа, патогенетическое обоснование иммунореабилитации мужчин с хроническим воспалением уrogenитального тракта с использованием иммуноактивного препарата, который содержит лизат бактерий *Escherichia coli*.

**Материалы и методы.** Обследованы 88 мужчин с хроническим воспалением уrogenитального тракта в возрасте от 22 до 40 лет. Все обследованные были распределены на две группы: I группа (44 человека) – инфертильные мужчины и II группа (44 человека) – фертильные мужчины. Продолжительность бесплодия у больных I группы составляла 3–6 лет.

Метод полимеразно-цепной реакции (ПЦР) использовали для выявления в семенной плазме *Chlamidia trachomatis*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *V. herpes*. На начало обследования прошло более года после завершения предыдущего лечения. Проводили исследование спермы и определяли морфологию сперматозоидов, используя окрашивание по Папаниколау. Учитывали концентрацию сперматозоидов, pH семенной жидкости, содержание лейкоцитов и их субпопуляций (гранулоциты, макрофаги, лимфоциты). Инфертильные мужчины были обследованы дополнительно после проведения курса иммунореабилитации.

Статистический анализ проводили на персональном компьютере с помощью пакета программы «MedStat».

**Результаты.** Пациенты инфертильной группы (I группа) характеризовались достоверным уменьшением количества моноцитов/макрофагов по сравнению с контрольной группой и с нормативными показателями. Колебания количества моноцитов/макрофагов у фертильных пациентов II группы было в пределах нормативных показателей. В то же время количество лимфоцитов имело обратную тенденцию к достоверному увеличению у пациентов I группы по сравнению со II группой и с нормативными показателями. Такой дисбаланс моноцитов/макрофагов и лимфоцитов у инфертильных мужчин в семенной плазме при отсутствии лейкоцитоспермии говорит в пользу наличия интимных механизмов нарушения сперматогенеза и участия системы иммунитета в этом процессе.

Во время микрометрии установлено отличие вариантов морфотипов сперматозоидов у пациентов обеих групп. Однако у инфертильных пациентов, несмотря на нормальное количество и подвижность сперматозоидов, остаются более выраженные морфофункциональные изменения, характеризующиеся преобладанием макросоматических и гиперголовчатых форм сперматозоидов. Результаты проведения комплексной терапии инфертильных мужчин с хроническим воспалением уrogenитального тракта показали, что включение лизата бактерий *Escherichia coli* в иммунореабилитацию пациентов приводит к улучшению субпопуляционного состава лейкоцитов спермы и к увеличению оплодотворяющего потенциала.

**Заключение.** Диагностически важным является как определение морфотипов сперматозоидов, так и определение диспропорции субпопуляций лейкоцитов в сперме при установлении мужского бесплодия. Это позволяет применять дифференцированный подход как к лечению общепринятыми терапевтическими средствами, так и к дифференцированной иммунотерапии.

**Ключевые слова:** семейный врач, мужское бесплодие, воспаление уrogenитального тракта, лизат бактерий *Escherichia coli*.

**Influence of bacterial extract on morphogenesis of spermatozoa of infertile men with chronic inflammation of urogenital tract**

**S. Yu. Tsiporenko, L.F. Matyuha**

The prerogative of primary medicine is the care of reproductive health, which includes along with other issues the treatment for male infertility. Along with the causes that violate reproductive capacity – providing adequate for the conception of frequency, rhythm and technique of sexual intercourse, some details in sexual life (premature ejaculation, interrupted sexual intercourse) – which are a component of excretory infertility, there are causes of secretory infertility, including inflammatory diseases of reproductive systems that are caused by sexually transmitted infections (STIs) and range from 10% to 40%.

Comprehensive medication anti-inflammatory therapy in urogenital inflammatory processes does not always provide a lasting therapeutic effect, since its results depend on the biological properties of pathogens, the state of the immune system and the patient's natural resistance. Extracting from this, in modern conditions, considerable attention is paid to the study of the effectiveness of immunoreactive drugs in the treatment and medical rehabilitation of patients with chronic urogenital pathology.

**The objective:** is to study of variants of sperm morphotype in seminal plasma of infertile men who have transmitted STIs and the presence of connection between disproportion of subpopulative composition of leukocytes of sperm and changes in morphotype and pathogenetic substantiation of immunorehabilitation of patients with chronic urogenital infection, using bacterial extract of *Escherichia coli*.

**Materials and methods.** 88 men with chronic inflammation of the urogenital tract were examined from the age of 22 to 40 years. All surveyed are divided into two groups: the first (44 persons) – infertile men and the second (44 persons) – fertile men. Duration of infertility in patients of the I<sup>th</sup> group was 3–6 years.

At the beginning of the survey, it took more than a year after the completion of the previous treatment. Sperm studies were performed and sperm morphology was determined using staining for Papanicolaou. Considered the concentration of sperm, pH of semen, the content of leukocytes and their subpopulations (granulocytes, macrophages, lymphocytes). Infertile men were examined further after a course of immunorehabilitation.

Statistical analysis was performed on a personal computer using the MedStat program package.

**Result.** Patients of the infertility group (Group I) were characterized by a significant decrease in the number of monocytes/macrophages, both in comparison with the control group, and with normative indicators. Fluctuations in the number of monocytes/macrophages in fertile patients in the second group were within the normative limits. At the same time, the number of lymphocytes had a reversible tendency to a significant increase in Group I patients compared with Group II and with normative indicators. Such an imbalance of monocytes/macrophages and lymphocytes in the infertile men in seminal plasma in the absence of leukocytospermia suggests the presence of intimate mechanisms of disorder of spermatogenesis and the participation of the immune system in this process.

During micrometry, differences in the variants of sperm morphotypes in patients of both groups were established. However, infertility patients, in spite of the normal amount and sperm motility, have more pronounced morphofunctional changes that are characterized by the predominance of macrosomatic and hyperciliated spermatozoa. The results of the comprehensive therapy of infertile men with chronic inflammation of the urogenital tract showed that the inclusion of bacterial extract of *Escherichia coli* in the immunorehabilitation of patients leads to an improvement in the subpopulation composition of leukocytes in the sperm, and, consequently, to an increase in fertilizing potential.

**Conclusion.** Diagnostically important is the determination of morphological changes in spermatozoa and the determination of disproportion of leukocyte subpopulations in semen in the establishment of male infertility. This makes it possible to apply a differentiated approach both to the treatment of commonly used therapeutic agents and to differentiated immunotherapy.

**Key words:** family doctor, male infertility, inflammation of the urogenital tract, bacterial extract of *Escherichia coli*.

Сведения об авторах

**Ципоренко Сергей Юрьевич** – Кафедра семейной медицины и амбулаторно-поликлинической помощи Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9; тел.: (050) 649-81-31. E-mail: tsiporenko@ukr.net

**Матюха Лариса Федоровна** – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9. E-mail: mlarysa@gmail.com

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Горпинченко І.І., Порошина Т.В., Добровольська Т.І., Калініна Н.А., Нуріманов К.Р., Драннік Г.М. Хронічний абактеріальний простатит: імунологічне дослідження еякуляту // Здоров'я чоловіка. – 2009; 2:80–82.
2. Демченко А.Н. Дисфункціональна гіпофертильність у чоловіків, новітні підходи к її класифікації, діагностики і терапії // Новини медицини і фармації. – 2004; 13:16–18.
3. Кульчавеня Е.В. Ефективність урваксома при рецидивуючих інфекційно-воспалительних захворюваннях мочеполової системи // Урологія. – 2011; 4: 7–11.
4. Лях Ю.Є., Гурьянов В.Г. Основи комп'ютерної біостатистики: аналіз інформації в біології, медицині і фармації статистичним пакетом MedStat. Донецьк. – 2004.
5. Руководство по андрологии / Под ред. Тиктинского Ш.Л. – 1990.
6. Aggarwal R, Puri M, Dada R, Saurabh G. Correlation between leukocytospermia and oxidative stress in male partners of infertile couples with leukocytospermia. *Int J of Reprod, Contraception, Obst and Gyn.* 2015; 4(1): 168–172.
7. Azenabor A, Olorunfoba Ekun A, Akinloye O. Impact of Inflammation on Male Reproductive Tract. *J Reprod Infertil.* 2015; 16(3): 123–129.
8. Baker P, Shand T. Men's health: time for a new approach to policy and practice? *J Glob Health* 2017; 7:010306.
9. Belva F, Bonduelle M, Roelants M, Michielsen D, Van Steirteghem A, Verheyen G, Tournaye H. Semen quality of young adult ICSI offspring: the first results. *Hum Reprod* 2016; 31:2811–2820.
10. Bessler WG, Esche U, Zgaga-Griesz A, Ataullakhanov R. Immunostimulatory properties of the bacterial extract OM-89 in vitro and in vivo. *Arzneimittelforschung.* 2010; 60(6):324–329.
11. Blackwell JM, Zaneveld LJ. Effect of abstinence on sperm acrosin, hypoosmotic swelling, and other semen variables. *Fertil Steril.* 1992; 58: 798–802.
12. el-Demiry MI, Hargreave TB, Busuttill A, James K, Ritchie AW, Chisholm GD. Lymphocyte sub-populations in the male genital tract. *Br J Urol.* 1985; 57: 769–774.
13. Fraczek M, and Kurpisz M. Inflammatory mediators exert toxic effects of oxidative stress on human spermatozoa. *J Androl.* 2007; 28(2): 325–333.
14. Glazer CH, Bonde JP, Eisenberg ML, Giwercman A, Haerivig KK, Rimborg S, Vassard D et al. Male infertility and risk of nonmalignant chronic diseases: a systematic review of the epidemiological evidence. *Semin Reprod Med.* 2017; 35:282–290.
15. Hollanders J.M.G., Carver-Wand J.A. Male Infertility – from A to Z. 1996; 94.
16. Kovalski N, de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species generated by human neutrophils inhibit sperm motility: protective effect of seminal plasma and scavengers. *Fertil Steril.* 1992; 58: 809–816.
17. Levine H, Jørgensen N, Martino-Andrade A, Mendiola J, Weksler-Derri D, Mindlis I, Pinotti R, Swan SH. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis. *Hum Reprod Update.* 2017; 23:646–649.
18. Magasi P, Panovics J, Illes A, Nagy M. Uro-Vaxom and the management of recurrent urinary tract infection in adults: a randomized multicenter double-blind trial. *Europ Urol.* 1994; 26: 137–140.
19. Martin-Du Pan R.C. et al. Relationship between Etiological Factors and Total Motile Sperm in 350 infertile Patients. *Arch Androl* 1997; 39 (3): 197–210.
20. Monica H. Vazquez-Levin. Response of Routine Semen Analysis and Critical Assessment of Sperm Morphology by Kruger Classification to Therapeutic Varicocelectomy. *J Urol.* 1997; 158(5): 1804–1807.
21. Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014; (12): CD007411. doi: 10.1002/14651858.
22. Thomas J, Fishel SB, Hall JA, Green S, Newton TA, Thornton SJ. Increased polymorphonuclear granulocytes in seminal plasma in relation to sperm morphology. *Hum Reprod.* 1997; 12: 2418–2421.

Статья поступила в редакцию 06.04.2018