

Стан клітинної ланки вродженого імунітету в інфертильних чоловіків на тлі токсокарозної інвазії

Л. Л. Воронцова, М. І. Дуб, В. А. Коваленко

ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України»

Ключові слова:
клітинна ланка вродженого імунітету, токсокарозна інвазія, чоловіче безпліддя.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 1(42). – С. 38–44

DOI:
10.14739/2310-1237.2018.1.129328

E-mail:
zmaro32@gmail.com,
dub.maryana@gmail.com

Дослідження ролі різноманітних факторів у розвитку патоспермії (наявність токсокарозної інвазії, рівень фрагментації ДНК сперматозоїдів, показники клітинної ланки вродженого імунітету) могло б доповнити вже наявні методи та дати можливість встановити вплив кожного фактора на ультраструктуру сперматозоїдів для кращого розуміння патогенезу порушень чоловічої репродуктивної функції.

Мета роботи – вивчення особливості порушень клітинної ланки вродженого імунітету в чоловіків із безпліддям на тлі токсокарозної інвазії.

Матеріали та методи. Обстежили 89 чоловіків віком від 20 до 45 років, яких поділили на 5 груп: перша (контрольна) – 12 фертильних чоловіків; друга (група порівняння) – 27 інфертильних пацієнтів із нормальним рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів і з відсутністю антитіл до токсокар; третя – 20 інфертильних чоловіків із нормальним рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів і наявністю антитіл до токсокар; до четвертої та п'ятої груп увійшли по 15 інфертильних чоловіків із високим рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів і наявністю антитіл до токсокар та їхньою відсутністю відповідно. Всім чоловікам виконали комплексне дослідження, що включало визначення рівня фрагментації ДНК сперматозоїдів і наявності токсокарозної інвазії, вивчення стану клітинної ланки вродженого імунітету, оцінювання ступеня розладів імунної системи.

Результати. Незавершеність фагоцитозу нейтрофільної та моноцитарної ланок спостерігали в усіх групах зі збереженням функціонально-метаболического резерву у другій і п'ятій групах і виснаженням його у третій і четвертій. Результати оцінювання ступеня розладів імунної системи показали, що найбільш імунологічно компрометованими є групи без наявності токсокарозної інвазії, в яких встановили імунну недостатність 2–3 ступеня. У групах із наявністю токсокарозу визначали зміни від активації до імунної недостатності 2 ступеня (шляхом зростання поглинальної здатності моноцитів), що, можливо, зумовлено наявністю токсокарозної інвазії, яка, вочевидь, і викликає активацію саме моноцитарної ланки.

Висновки. Стан клітинної ланки вродженого імунітету в інфертильних чоловіків характеризується незавершеністю фагоцитозу як нейтрофільної, так і моноцитарної ланок. Наявність токсокарозної інвазії в цього контингенту хворих вносить певні зміни у фагоцитарну систему, що проявляється зростанням поглинальної здатності саме моноцитів, які є ключовими імунними факторами у захисті від гельмінтів.

Ключевые слова:
клеточное звено вродженого імунітету, токсокарозна інвазія, мужское бесплодие.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 1(42). – С. 38–44

Состояние клеточного звена врожденного иммунитета у инфертильных мужчин на фоне токсокарозной инвазии

Л. Л. Воронцова, М. И. Дуб, В. А. Коваленко

Исследование роли различных факторов в развитии патоспермии (наличие токсокарозной инвазии, уровня фрагментации ДНК сперматозоидов, показателей клеточного звена врожденного иммунитета) могло бы дополнить уже существующие методы и позволить установить влияние каждого фактора на ультраструктуру сперматозоидов для более углубленного понимания патогенеза нарушенной мужской репродуктивной функции.

Цель работы – изучение особенностей нарушенной клеточного звена врожденного иммунитета у мужчин с бесплодием на фоне токсокарозной инвазии.

Материалы и методы. Обследовали 89 мужчин в возрасте от 20 до 45 лет, которые были разделены на 5 групп: первую (контрольную) группу составили 12 фертильных мужчин; вторую (группу сравнения) – 27 инфертильных пациентов с нормальным уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов и с отсутствием антител к токсокарам; третью – 20 инфертильных мужчин с нормальным уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов и наличием антител к токсокарам; четвертую и пятую группы – по 15 инфертильных мужчин с высоким уровнем фрагментации ДНК сперматозоидов и наличием антител к токсокарам и их отсутствием соответственно. Всем мужчинам проведено комплексное исследование, включающее определение уровня фрагментации ДНК сперматозоидов и наличия токсокарозной инвазии, изучение состояния клеточного звена врожденного иммунитета, оценку степени расстройств иммунной системы.

Результаты. Незавершенность фагоцитоза нейтрофильного и моноцитарного звеньев отмечена во всех исследуемых группах с сохранением функционально-метаболического резерва во второй и пятой группах и истощением его в третьей и четвертой. Результаты оценки степени расстройств иммунной системы показали, что наиболее иммунологически компрометируемые группы – без наличия токсокарозной инвазии, в которых наблюдали иммунную недостаточность 2–3 степени. В группах с наличием токсокароза определены изменения от активации до иммунной недостаточности 2 степени (за счет роста поглотительной способности моноцитов), что, возможно, обусловлено наличием токсокарозной инвазии, которая, очевидно, и вызывает активацию именно моноцитарного звена.

Выводы. Состояние клеточного звена врожденного иммунитета у инфертильных мужчин характеризуется незавершенностью фагоцитоза как нейтрофильного, так и моноцитарного звеньев. Наличие токсокарозной инвазии у данного контингента больных вносит определенные изменения в фагоцитарную систему, проявляется ростом поглотительной способности именно моноцитов, которые являются ключевыми иммунными факторами в защите от гельминтов.

Condition of a cellular link of innate immunity in infertile men against the background of toxocariasis invasion

L. L. Vorontsova, M. I. Dub, V. A. Kovalenko

Aim. Investigating the role of various factors in the development of pathospermia, such as: the presence of toxocariasis invasion, the level of DNA fragmentation of sperm, indices of the cellular link of innate immunity, could complement existing methods and will allow the determination of the share of influence of each factor on the ultrastructure of spermatozoa for a more in-depth understanding of the pathogenesis of violations of male reproductive function. That is why the aim of our research was to study the peculiarities of disorders of the cellular link of innate immunity in men with infertility against the background of toxocariasis invasion.

Materials and methods. 89 men aged from 20 to 45 years, which were divided into 5 groups, were examined. The first (control) group consisted of 12 fertile men; the second group (comparison group) – 27 infertile patients with normal level of DNA fragmentation of sperm and without antibodies to toxocariasis; the third group – 20 infertile men with normal level of DNA fragmentation of sperm and presence of antibodies to toxocariasis. The fourth and fifth groups included 15 infertile men with high levels of DNA fragmentation of sperm and the presence and absence of antibodies to toxocariasis respectively. A comprehensive research was conducted for all the men that included determination of sperm DNA fragmentation, presence of toxocariasis invasion and the study of the state of the cellular link of innate immunity as well as assessment of the degree of immune system disorders.

Results. The incompleteness of phagocytosis in neutrophilic and monocytic elements was observed in all studied groups, in the second and fifth groups with the preservation of the functional-metabolic reserve and the depletion of it in the third and fourth groups. The results of the assessment of the degree of immune system disorders have shown that most immunologically compromised are the groups without the presence of toxocariasis invasion, in which there was an immune failure of 2–3 degree. In groups with the presence of toxocariasis, on the contrary, changes from activation to immune failure of 2 degree (due to the growth of absorbing capacity of monocytes) were determined, which may be due to the presence of toxocariasis invasion, which, in turn, obviously causes the activation of the monocytic link.

Conclusions. The state of the cellular link of innate immunity in infertile men is characterized by incompleteness of phagocytosis of both neutrophilic and monocytic elements. The presence of toxocariasis invasion in this contingent of patients, in turn, introduces certain changes to the phagocytic system, which manifests itself as an increase in absorbing capacity of monocytes, which are key immune factors in the protection against helminths.

Key words:
innate immunity,
toxocariasis,
male infertility.

Pathologia
2018; 15 (1), 38–44

Зважаючи на тенденцію до збільшення частоти випадків чоловічого безпліддя, суперечливі підходи до тактики ведення таких пацієнтів, недостатньо ефективне лікування, можна стверджувати, що це пов'язано з нез'ясованими до кінця механізмами розвитку та перебігу захворювання. І хоча в ряді випадків причини інфертильності ідентифікуються доволі легко (наприклад, анатомічні та гормональні порушення), однак у значній кількості пацієнтів встановлення етіологічного фактора ускладнене (так зване ідіопатичне безпліддя), саме тому адекватна діагностика набуває особливого значення [1,2].

Останнім часом зниження фертильності у чоловіків пов'язують з поширенням негативного впливу різних факторів довкілля (екологічних, соціально-економічних, інфекційних), що діють на рівні організму, клітинному, молекулярному рівнях і призводять до патозооспермії [3–6]. Одним із таких факторів, що здатний викликати порушення репродуктивної функції в чоловіків, є токсокароз – один із найбільш поширених гельмінтозів, захворюваність яким стала серйозною медико-соціальною проблемою для багатьох країн, включаючи Україну. Зараженість населення токсокарозом коливається від 3–7 % в європейських країнах і до 50–82 % – в Індонезії. Зокрема, у США кількість серопозитивних осіб становить 13,9 %, у Польщі – 14,5 % [7]. В Україні, за даними офіційної статистики, щорічно реєструють 300–400 тис. випадків токсокарозу [8].

У 1999 р. В. Я. Бекишем висунута гіпотеза, що метаболіти гельмінтів, у тому числі метаболіти токсокар, можуть викликати не тільки порушення в генетичному апараті соматичних клітин господаря, але і в

його генеративних клітинах, а також є потенційними мутагенами статевих клітин ссавців і людини [9]. Так, під час дослідження експериментального токсокарозу встановлено: метаболіти личинок токсокар здатні генотоксично впливати на кінцеву стадію сперматогенезу – сперматозоїди сім'яників, зумовлюючи підвищення рівня цих клітин із пошкодженою одноланцюговою ДНК [10]. Однак вивчення впливу токсокарозої інвазії на репродуктивну систему обмежуються тільки дослідженнями, які виконані на тваринах (експериментальний токсокароз), саме тому важливо оцінити вплив цього гельмінтозу на розвиток порушень фертильності в чоловіків репродуктивного віку.

Тривалий час чоловічий репродуктивний тракт та імунну систему вивчали окремо як не пов'язані системи. Але в останні два десятиліття особливий інтерес виник до впливу імунної системи на чоловічу фертильність. Встановлено, що ця система відіграє важливу роль у репродукції людини, і зміна імунного гомеостазу може порушити нормальний репродуктивний процес і зумовити безпліддя [11,12]. Токсокароз, безумовно, також впливає на імунну систему хазяїна, і саме на клітини імунітету, котрі конституційно призначені для елімінації генетично чужорідності, якими є личинки токсокар [13–15].

В організмі господаря гельмінти викликають широкий спектр імунних реакцій, природа та механізм яких специфічні, оскільки гельмінти можуть бути джерелами численних антигенних подразників [16]. У фаховій літературі широко дискутується питання щодо ролі імунологічних порушень у розвитку чоловічого безпліддя. Завдяки достатньо великій кількості досліджень в

основному з'ясовані зміни клітинного імунітету, але відомості про стан системи фагоцитозу, включаючи нейтрофільні та моноцитарні ланки, майже відсутні, хоча було б правильно починати вивчення механізмів захисту саме з фагоцитозу як найбільш ранньої, термінової та ефективної реакції організму [17, 18].

Отже, дослідження ролі різноманітних факторів у розвитку патоспермії – наявності токсокарозної інвазії, рівня фрагментації ДНК сперматозоїдів, показників клітинної ланки вродженого імунітету – могли б доповнити чинні методи та дали б змогу встановити вплив кожного фактора на ультраструктуру сперматозоїдів для кращого розуміння патогенезу порушень чоловічої репродуктивної функції.

Мета роботи

Вивчення особливостей змін клітинних факторів вродженого імунітету в чоловіків із порушенням репродуктивної функції на тлі токсокарозної інвазії.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 89 чоловіків віком від 20 до 45 років, котрі дали інформовану письмову згоду на участь у дослідженні, котре схвалене комітетом із біоетики ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України». Дослідження здійснили відповідно до етичних і морально-правових вимог наказу Міністерства охорони здоров'я України № 281 від 01.11.2000 р.

Пацієнтів поділили на п'ять груп:

- перша (контрольна) – 12 фертильних, практично здорових чоловіків, які пройшли обстеження як донори банку сперми (згідно з наказом МОЗ України № 787 від 09.09.2013 р.);

- друга (порівняння) – 27 інфертильних пацієнтів з нормальним рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів і з відсутністю антитіл до токсокар;

- третя – 20 інфертильних чоловіків із нормальним рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів і наявністю антитіл до токсокар;

- четверта – 15 інфертильних чоловіків із високим рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів і наявністю антитіл до токсокар;

- п'ята – 15 інфертильних чоловіків із високим рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів без антитіл до токсокар.

У чоловіків дослідних груп під час бактеріологічного дослідження еякуляту виявили бактеріоспермію, що зумовлена грампозитивною та грамнегативною флорою, а також наявність інфекцій, які передаються статевим шляхом.

Усім чоловікам виконали комплексне дослідження, що включало визначення рівня фрагментації ДНК сперматозоїдів, наявності токсокарозної інвазії та вивчення стану клітинних факторів вродженого імунітету.

Фрагментацію ДНК сперматозоїдів здійснили методом Sperm Chromatin Dispersion test (патент РФ № 2373288) з наступною візуалізацією за допомогою світлового мікроскопа GRANUM. За нормальні значення вважали рівень цього показника до 30 % із підра-

хованих 500 сперматозоїдів за допомогою світлового мікроскопа GRANUM.

Наявність токсокарозної інвазії встановлювали шляхом виявлення в сироватці крові кількості антитіл імуноглобулінів G (IgG) до антигенів токсокар імуноферментним методом за допомогою аналізатора фотометричного Immucorchem-2100 (НТІ, США) та з використанням набору реактивів «Вітротест» (Україна). Для кожної дослідної проби розраховували індекс позитивності за відношенням оптичної густини зразка до граничного значення негативного контролю. Результат вважали позитивним при значеннях >1,1.

Для дослідження клітинних факторів вродженої резистентності визначали фагоцитарну активність нейтрофілів і моноцитів крові. В основі дослідження – методика встановлення їх поглинальної і перетравлюваної здатності щодо мікробної тест-культури після спільної преінкубації (за Г. Н. Фрімелем) [19].

Кисневозалежний метаболізм нейтрофілів (НСТ-тест) і функціональний резерв клітин (стимульований НСТ-тест) визначали за М. Є. Віксманом, А. Н. Маянським [20].

Дослідження активності мієлопероксидази (МПО) нейтрофілів здійснювали цитохімічно за модифікованим методом Р. П. Нарцисова [21].

Вміст катіонних білків (КБ) у нейтрофілах визначали за допомогою методу з бромфеноловим синім за М. Г. Шубичем [22].

Вивчаючи стан клітинних факторів вродженого імунітету, візуальне оцінювання здійснювали за допомогою мікроскопа з імерсійною системою GRANUM. Під час виконання методик використовували такі прилади: центрифуга СМ-6, термостат ТС-80-М2, термостат ТW-2, лічильник лабораторний С-5, секундомір СОП, рН-метр 150 М, ареометр АОН-1, ваги електронні FR-H-600, гігрометр ВІТ-2, холодильник Indesit, термометр ТС-7М1.

Ступінь імунних розладів розраховували за універсальною формулою розладів імунної системи (ФРІС), запропонованою А. М. Земсковим та ін. [23]:

$$(\text{показник хворого/нормальний показник} - 1) \times 100 \%$$

Якщо розрахована величина має знак «мінус», у хворого визначається імунна недостатність (-1, -2, -3), якщо «плюс» – гіперфункція імунної системи (+1, +2, +3). Коли отримана величина знаходиться в інтервалі 1–33 %, це оцінюють як перший ступінь імунних розладів (-1), діапазон коливань від 34 % до 66 % відповідає другому ступеню (-2), перевищення 66 % – третьому (-3).

Статистично цифрові результати опрацювали за допомогою програми Statistica (StatSoft Statistica v.6.0.; номер ліцензії програми STA 862D175437Q) з використанням тесту Вальда-Вольфовиця (Wald-Wolfowitz runs test), порівнюючи дві незалежні групи. Різницю вважали вірогідною при досягнутому рівні значущості $p < 0,05$. Дані наведені як медіана (Me) і міжквартильний розмах (RQ), який являє собою різницю між значеннями 75-го і 25-го процентилей ($RQ = 75\% UQ - 25\% LQ$), де UQ – верхній квартиль; LQ – нижній квартиль.

Таблиця 1. Стан функціонально-метаболічного статусу нейтрофілів і моноцитів у фертильних та інфертильних чоловіків, Me (75%Q – 25%Q = RQ)

Показник, одиниці вимірювання	1 група (n = 12)	2 група (n = 27)	3 група (n = 20)	4 група (n = 15)	5 група (n = 15)
ФІН на 30 хв, %	66,5 (68,0–66,0 = 2,0)	50,0* (54,0–38,0 = 16,0)	38,0* (53,0–35,0 = 18,0)	38,0* (48,0–38,0 = 10,0)	45,0* (58,0–38,0 = 20,0)
ФЧН на 30 хв, у.о.	2,2 (2,3–2,1 = 0,2)	1,5* (1,8–1,3 = 0,5)	1,5* (1,7–1,4 = 0,3)	1,5* (1,7–1,4 = 0,3)	1,4* (1,5–1,3 = 0,2)
ФІН на 120 хв, %	56,0 (57,0–55,0 = 2,0)	40,0* (50,0–33,0 = 17,0)	38,0* (50,0–25,0 = 25,0)	39,0* (50,0–30,0 = 12,0)	42,0* (52,0–30,0 = 22,0)
ФЧН на 120 хв, у.о.	3,0 (3,1–2,9 = 0,2)	1,4* (1,7–1,2 = 0,5)	1,4* (1,8–1,2 = 0,6)	1,5* (1,7–1,4 = 0,3)	1,3* (1,5–1,0 = 0,5)
ФІМ на 30 хв, %	34,5 (36,5–33,0 = 3,5)	28,0 (30,0–25,0 = 5,0)	30,0* (44,0–25,0 = 19,0)	30,0 (34,0–25,0 = 9,0)	27,0* (28,0–24,0 = 4,0)
ФЧМ на 30 хв, у.о.	2,0 (2,2–1,9 = 0,3)	1,3* (1,5–1,2 = 0,3)	1,4* (1,5–1,3 = 0,2)	1,5* (1,8–1,4 = 0,4)	1,3* (1,5–1,2 = 0,3)
ФІМ на 120 хв, %	20,0 (21,5–19,0 = 2,5)	25,0* (30,0–20,0 = 10,0)	34,0 (40,0–20,0 = 20,0)	30,0 (31,0–22,0 = 9,0)	20,0 (25,0–20,0 = 5,0)
ФЧМ на 120 хв, у.о.	3,0 (3,2–2,8 = 0,4)	1,2* (1,5–1,1 = 0,4)	1,5* (1,7–1,4 = 0,3)	1,3* (1,7–1,2 = 0,5)	1,1** (1,3–1,0 = 0,3)
НСТсп, у.о.	2,1 (2,2–1,9 = 0,3)	1,7* (1,8–1,3 = 0,5)	1,5 (2,0–1,5 = 0,5)	1,7* (1,7–1,4 = 0,3)	1,9 (2,0–1,7 = 0,3)
НСТст, у.о.	2,0 (2,2–1,9 = 0,3)	2,0 (2,0–1,8 = 0,2)	1,8 (2,0–1,3 = 0,7)	1,7** (2,0–1,5 = 0,5)	2,0 (2,3–1,9 = 0,4)
КБ, у.о.	2,3 (2,3–2,2 = 0,1)	1,6* (1,8–1,5 = 0,3)	1,8* (1,9–1,6 = 0,3)	2,0* (2,0–1,5 = 1,6)	1,5* (1,9–1,2 = 0,7)
МПО, у.о.	2,2 (2,3–2,1 = 0,2)	2,4 (2,7–2,1 = 0,6)	2,8* (2,8–1,6 = 1,2)	2,3 (2,6–2,1 = 0,5)	2,3 (2,8–2,0 = 0,8)

*: $p < 0,05$ щодо 1 групи; **: $p < 0,05$ щодо 2 групи.

Результати та їх обговорення

У результаті дослідження системи фагоцитозу в пацієнтів другої групи виявили зниження поглинальної функції нейтрофілів (ФІН) на 30 і 120 хв на 25 % і 29 % відповідно. Перетравлювана здатність нейтрофілів (ФЧН) також була знижена на 30 хв на 32 %, на 120 хв на 54 % щодо показників контрольної групи.

Під час дослідження моноцитарної ланки спостерігали зниження поглинальної функції на 30 хв і збільшення на 120 хв на 19 % і 25 % відповідно. Перетравлювана здатність була знижена як на 30 хв, так і на 120 хв – на 35 % та 60 % щодо показників контрольної групи відповідно (табл. 1).

Показники спонтанного НСТ-тесту знижені на 19 %, а стимульованого відповідали значенням контрольної групи.

Під час дослідження показників мікробіцидної системи виявили: КБ були знижені на 20 %, а показники МПО збільшені на 9 %, що є статистично невірним, але клінічно значущим.

Отже, в пацієнтів другої групи виявили зниження поглинальної та перетравлюваної здатності нейтрофілів, а також підвищення поглинальної та зниження перетравлюваної функції моноцитів, що свідчить про незавершеність фагоцитозу вказаних ланок на тлі збереження функціонально-метаболічного резерву клітин і виснаження мікробіцидної системи, зокрема КБ.

У пацієнтів третьої групи спостерігали зниження поглинальної здатності нейтрофілів на 30 і 120 хв на 43 % та 33 %; перетравлюваної – на 32 % та 54 % щодо групи контролю. Під час дослідження моноцитарної ланки спостерігали зниження поглинальної функції на 30 хв на 13 % та збільшення на 120 хв на 70 %; перетравлювана здатність знижена на 30 % і 50 % відповідно щодо групи контролю.

Показники НСТ-тесту (спонтанного та стимульованого) були знижені на 29 % і 10 % відповідно щодо групи контролю.

Вміст КБ був зниженим на 22 %, а МПО збільшеним на 27 % щодо групи контролю.

Отже, у третій групі спостерігали недостатність поглинальної та перетравлюваної функції нейтрофілів при підвищенні поглинальної та зниженні перетравлюваної здатності моноцитів. Це свідчить про незавершеність фагоцитозу як нейтрофільної, так і моноцитарної ланок на тлі виснаження функціонально-метаболічного резерву та дисбалансу мікробіцидної системи (підвищення МПО та зниження КБ).

У пацієнтів четвертої групи встановили зниження на 30 і 120 хв як поглинальної здатності нейтрофілів, так і перетравлюваної здатності на 43 % і 31 %, 32 % і 50 % щодо контрольної групи. У моноцитів спостерігали зниження поглинальної здатності на 30 хв на 13 % та збільшення на 120 хв на 50 % щодо контрольної групи; зниження перетравлюваної здатності на 30 і 120 хв на 25 % і 57 % відповідно щодо контрольної групи.

Показники НСТ-тесту (спонтанного та стимульованого) були знижені на 19 % та 15 % відповідно щодо контрольної групи.

Вміст КБ знижувався на 13 % щодо контрольної групи, значення МПО майже відповідали контролю.

Отже, в четвертій групі також спостерігали незавершений фагоцитоз як нейтрофільної, так і моноцитарної ланок (встановили зниження поглинальної та перетравлюваної здатності нейтрофілів, підвищення поглинальної та зниження перетравлюваної функції моноцитів) на тлі виснаження функціонально-метаболічного резерву та мікробіцидної системи.

У пацієнтів п'ятої групи спостерігали зниження поглинальної та перетравлюваної здатності нейтрофілів на 30 і 120 хв на 33 % і 25 % та 36 % і 57 % відповідно щодо контрольної групи. Поглинальна здатність моноцитів знижувалась на 30 хв на 22 % щодо контрольної групи, а на 120 хв відповідала її значенням. Перетравлювана здатність моноцитів була знижена на 30 і 120 хв на 35 % і 64 % відповідно щодо контрольної групи.

Показники НСТ-тесту спонтанного були зниженими на 9 %, а стимульованого відповідали значенням контрольної групи.

Вміст КБ був знижений на 35 % щодо контрольної групи, вміст МП майже відповідав контролю.

Отже, спостерігали зниження поглинальної та перетравлюваної здатності як нейтрофілів, так і моноцитів, що вказує на незавершеність фагоцитарної функції обох клітинних ланок вродженого імунітету на тлі збереження функціонально-метаболического резерву клітин і виснаження мікробіцидної системи.

Результати досліджень показали, що незавершеність фагоцитозу нейтрофільної та моноцитарної ланок визначали в усіх групах (2, 3, 4, 5 групи) зі збереженням функціонально-метаболического резерву у другій і п'ятій групах, виснаження його у третій і четвертій.

Виходячи з отриманих даних, цікаво визначити ступінь імунологічних розладів у всіх групах пацієнтів із порушеннями репродуктивної функції на тлі токсокарозної інвазії. Визначення ступеня розладів неспецифічної імунної системи дало можливість встановити найбільш імунологічно скомпрометовані ланки фагоцитозу.

Для другої групи ФРІС нейтрофільної ланки має вигляд $FIN_{30}^{-1} FCH_{30}^{-2} FIN_{120}^{-1} FCH_{120}^{-2} NST_{ст}^{-1}$ (властива недостатності 1–2 ступеня), для моноцитарної ланки – $FIM_{30}^{-1} FCM_{30}^{-2} FIM_{120}^{-1} FCM_{120}^{-3}$ (характерна для недостатності 1–3 ступенів).

Для третьої групи формула нейтрофільної ланки має вигляд $FIN_{30}^{-2} FCH_{30}^{-2} FIN_{120}^{-2} FCH_{120}^{-2} NST_{ст}^{-1} NST_{ст}^{-1}$ (властива недостатності 1–2 ступеня), для моноцитарної ланки – $FIM_{30}^{-1} FCM_{30}^{-1} FIM_{120}^{-2} FCM_{120}^{-2}$ (характеризує зміни від недостатності до активації 2 ступеня).

Для четвертої групи формула нейтрофільної ланки має вигляд $FIN_{30}^{-2} FCH_{30}^{-2} FIN_{120}^{-2} FCH_{120}^{-2} NST_{ст}^{-1} NST_{ст}^{-1}$ (властива недостатності 1–2 ступеня), для моноцитарної ланки – $FIM_{30}^{-1} FCM_{30}^{-1} FIM_{120}^{-2} FCM_{120}^{-2}$ (характеризує зміни від недостатності до активації 2 ступеня).

Для п'ятої групи формула нейтрофільної ланки має вигляд $FIN_{30}^{-2} FCH_{30}^{-2} FIN_{120}^{-1} FCH_{120}^{-2} NST_{ст}^{-1}$ (властива недостатності 1–2 ступеня), для моноцитарної ланки – $FIM_{30}^{-1} FCM_{30}^{-2} FCM_{120}^{-3}$ (характерна для недостатності 2–3 ступенів).

Судячи з результатів вивчення ступеня розладів імунної системи в пацієнтів усіх груп, можна зробити висновок: найбільш імунологічно скомпрометованими є друга й п'ята групи (без наявності токсокарозної інвазії), в яких спостерігали недостатність 2–3 ступенів.

У третій і четвертій групах визначили зміни ФРІС від активації до недостатності 2 ступеня (шляхом зростання поглинальної функції моноцитів), що, можливо, зумовлено наявністю токсокарозної інвазії, котра, вочевидь, і викликає активацію саме моноцитарної ланки.

В основному атака клітин паразита здійснюється за допомогою антитілозалежної клітинно опосередкованої цитотоксичності, і як ефекторні клітини при цьому діють саме макрофаги, котрі внаслідок фагоцитозу та продукції певних цитокінів сприяють швидкому вигнанню пошкодженого імунною реакцією гельмінта [24,25].

Отже, отримані нами дані узгоджуються зі сталою думкою про розвиток дисбалансу імунологічних показників на тлі паразитарної інвазії, що виражений у формі кількісних і функціональних змін серед моноцитів, нейтрофілів і лімфоцитів периферичної крові, а також у формі порушення нормальних співвідношень клітинних субпопуляцій, що є основою порушення імунологічної реактивності [26,27].

Висновки

1. У результаті дослідження встановили, що токсокароз викликає імунопатологічні реакції, зумовлені ступенем взаємної адаптації паразита та хазяяна.

2. Найбільш імунологічно компрометованими є групи без наявності токсокарозної інвазії (друга та п'ята), що проявляється незавершеністю фагоцитозу обох ланок зі змінами ФРІС (недостатність 2–3 ступенів) на тлі збереження функціонально-метаболического резерву.

3. У чоловіків з наявністю токсокарозної інвазії (третья та четверта групи) визначається незавершеність фагоцитозу як нейтрофільної, так і моноцитарної ланок зі змінами ФРІС (від недостатності до активації 2 ступеня) на тлі виснаження функціонально-метаболического резерву.

4. Дослідження клітинної ланки вродженого імунітету в чоловіків із порушенням репродуктивної функції є необхідною складовою комплексного обстеження, що дасть змогу вдосконалити діагностику чоловічого безпліддя та сприятиме розробленню патогенетично обґрунтованої тактики лікування.

Перспективи подальших досліджень. З огляду на наведені факти, планується комплексне вивчення стану вродженого та набутого імунітету, включаючи дослідження цитокінового статусу у фертильних та інфертильних чоловіків з урахуванням рівня фрагментації ДНК сперматозоїдів і наявності токсокарозної інвазії для розроблення нових патогенетично обґрунтованих підходів діагностики чоловічого безпліддя.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of Interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Воронцова Л. Л., д-р мед. наук, професор, зав. каф. клінічної лабораторної діагностики, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Дуб М. І., старший викладач каф. клінічної лабораторної діагностики, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Коваленко В. А., канд. біол. наук, старший викладач каф. клінічної лабораторної діагностики, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Сведения об авторах:

Воронцова Л. Л., д-р мед. наук, профессор, ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Дуб М. И., старший преподаватель каф. клинической лабораторной диагностики, ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Коваленко В. А., канд. биол. наук, старший преподаватель каф. клинической лабораторной диагностики, ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Information about authors:

Vorontsova L. L., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, State Establishment "Zaporizhzhia Medical Academy of Post Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Dub M. I., Senior Lecturer, State Establishment "Zaporizhzhia Medical Academy of Post Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Kovalenko V. A., PhD in Biology, Senior Lecturer, State Establishment "Zaporizhzhia Medical Academy of Post Graduate Education of Ministry of Health of Ukraine".

Надійшла до редакції / Received: 22.01.2018

Після доопрацювання / Revised: 13.02.2018

Прийнято до друку / Accepted: 15.02.2018

Список літератури

- [1] Nordkap L. Male infertility / L. Nordkap, E. Carlsen, J. Fedder // *Ugeskr Laeger*. – 2012. – Vol. 41(174). – P. 2444–2448.
- [2] Centola G.M. Semen assessment / G.M. Centola // *Urol Clin North Am*. – 2014. – Vol. 1(41). – P. 163–167.
- [3] Human sperm chromatin epigenetic potential: genomics, proteomics, and male infertility / J. Castillo, J.M. Estanyol, J.L. Balleška, et al. // *Asian J Androl*. – 2015. – Vol. 17(4). – P. 601–609.
- [4] Guidelines on Male Infertility / A. Jugwirth, T. Diemer, G.R. Dohle, et al. // *European Association of Urology*. – 2015. – 42 p.
- [5] Поворознюк М.В. Фактори, що впливають на стан фертильності у чоловіків з непліддям у шлюбі / М.В. Поворознюк // *Медицинские аспекты здоровья мужчины*. – 2015. – №2(17). – С. 63–68.
- [6] Farhi J. Distribution of causes of infertility in papatients attending primary fertility clinics in Israel / J. Farhi, A. Ben-Haroush // *Isr Med Assoc J*. – 2011. – Vol. 13(1). – P. 51–54.
- [7] Masperson C.N. The epidemiology and public health importance of toxocarasis: a soonosis of global importance / C.N. Masperson // *Int J Parasitol*. – 2013. – Vol. 43(12–13). – P. 999–1008.
- [8] Вісцеральний токсокароз: особливості клінічного перебігу (клінічний випадок) / О.В. Усачова, О.А. Дралова, О.В. Конакова, В.В. Бондарева // *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика*. – 2013. – №3. – С. 304–307.
- [9] Бекиш В.Я. Метаболиты гельминтов как вероятные мутагены половых клеток владельца / В.Я. Бекиш // *Вопросы экспериментальной биологии и медицины*: сб. науч. трудов. – Витебск, 1999. – С. 70–73.
- [10] Бекиш В.Я. Состояние генома владельца при гельминтозах / В.Я. Бекиш, О.-Я.Л. Бекиш. – Витебск: Изд-во ВГМУ, 2004. – 218 с.
- [11] Оценка влияния иммунологических факторов на структурную организацию хроматина сперматозоидов / М.Н. Тарасова, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова, И.А. Газиева // *Иммунология Урала: материалы VI конференции иммунологов Урала (28–31 октября 2007 г.)*. – 2007. – №1(6). – С. 165–167.
- [12] Этиология аутоиммунного мужского бесплодия / В.А. Божедомов, М.А. Николаева, И.В. Ушакова, и др. // *Акушерство и гинекология*. – 2013. – №2. – С. 68–76.
- [13] Иммунодиагностика токсокароза / П.Д. Новиков, Ю.Т. Никулин, Ж.В. Хотетовская, Д.К. Новиков // *Иммунология, инфектология, аллергология*. – 2007. – №2(65). – С. 65–72.
- [14] Адаменко Г.П. Токсокароз – неотложная проблема общественного здравоохранения / Г.П. Адаменко, Ю.Т. Никулин // *Медицинские новости*. – 2004. – №2. – С. 31–36.

- [15] Стибель В.В. Дослідження кількості Т-і В-лімфоцитів за дії *Toxocara canis* / В.В. Стибель, О.Б. Прийма, С.І. Пономар // *Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького*. – 2014. – Т. 16. – №3(60). – С. 330–334.
- [16] Начева Л.В. Клеточные реакции при гельминтозах / Л.В. Начева, А.В. Литягина // *Российский паразитологический журнал*. – 2012. – №3. – С. 80–86.
- [17] Савельева Н.Н. Фагоцитарная активность нейтрофилов крови у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом I–II степени тяжести на фоне паразитов / Н.Н. Савельева // *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. – 2016. – Т. 15. – №4. – С. 80–87.
- [18] Висмонт Ф.И. Воспаление (патофизиологические аспекты): учебное пособие / Ф.И. Висмонт. – Минск: БГМУ, 2006. – 48 с.
- [19] Фримель Н. Иммунологические методы / Г.Н. Фримель. – М.: Медицина, 1984. – 472 с.
- [20] Вискман М.Е. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросиногена тетразолия: методические рекомендации / М.Е. Вискман, А.Н. Маянский. – Казань: Казанский НИИЭМ, 1979. – 21 с.
- [21] Нарцисов Р.П. Цитохимические исследования лейкоцитов / Р.П. Нарцисов // *Лабораторное дело*. – 1964. – №3. – С. 150–151.
- [22] Шубич М.Г. Выявление катионного белка в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего / М.Г. Шубич // *Цитология*. – 1974. – №10. – С. 1321–1322.
- [23] Руководство по клинической иммунологии для клинических врачей / А.М. Земсков, В.М. Земсков, В.А. Черешнев и др. – М.: Трида-Х, 2011. – 288 с.
- [24] Makepeace B.L. Granulocytes in Helminth Infection – Who is Calling the Shots? / B.L. Makepeace, C. Martin, J.D. Turner, S. Specht // *Curr Med Chem*. – 2012. – Vol. 19(10). – P. 1567–1586.
- [25] Kreider T. Alternatively activated macrophages in helminth infections / T. Kreider, R.M. Anthony, J.F. Urban, W.C. Gause // *Curr Opin Immunol*. – 2007. – Vol. 19(4). – P. 448–453.
- [26] Гришина Е.А. Некоторые механизмы вторичной иммуносупрессии в процессе хронизации геогельминтозов / Е.А. Гришина, А.С. Довгалев // *Российский паразитологический журнал*. – 2016. – № 36(2). – С. 202–209.
- [27] Extracellular Vesicles from a Helminth Parasite Suppress Macrophage Activation and Constitute an Effective Vaccine for Protective Immunity / G. Coakley, J.L. McCaskill, J.G. Borger et al. // *Cell Reports*. – 2017. – Vol. 19(8). – P. 1545–1557.

References

- [1] Nordkap, L., Carlsen, E., & Fedder, J. (2012). Male infertility. *Ugeskr Laeger*, 41(174), 2444–2448.
- [2] Centola, G. M. (2014). Semen assessment. *Urol Clin North Am*, 1(41), 163–167.
- [3] Castillo, J., Estanyol, J. M., Balleška, J. L., & Oliva, R. (2015). Human sperm chromatin epigenetic potential: genomics, proteomics, and male infertility. *Asian J Androl*, 17(4), 601–609. doi: 10.4103/1008-682X.153302.
- [4] Jugwirth, A., Diemer, T., Dohle, G. R., Giwerzman, A., Kopa, Z., Krausz, C., & Tournaye, H. (2015). Guidelines on Male Infertility. *European Association of Urology*.
- [5] Povoroznyuk, M. V. (2015). Faktory, shcho vplyvaiut na stan fertylnosti u cholovikiv z nepliddiam u shliubi [Factors affecting the state of fertility in men with infertility in marriage]. *Medycinskie aspekty zdorovya muzhchyn*, 2(17), 63–68. [in Ukrainian].
- [6] Farhi, J., & Ben-Haroush, A. (2011). Distribution of causes of infertility in papatients attending primary fertility clinics in Israel. *Isr Med Assoc J*, 13(1), 51–54.
- [7] Masperson, C. N. (2013). The epidemiology and public health importance of toxocarasis: a soonosis of global importance. *Int J Parasitol*, 43(12–13), 999–1008. doi: 10.1016/j.ijpara.2013.07.004.
- [8] Usachova, O. V., Dralova, O. A., Konakova, O. V., & Bondareva, V. V. (2013). Vistseralnyy toksokaroz: osoblyvosti klinichnoho perebihu (klinichnyi vypadok) [Visceral toxocarasis: clinical features (case report)]. *Zbirnyk naukovykh prats spivrobitnykiv NMAPO imeni P.L. Shupyka*, 3, 304–307. [in Ukrainian].
- [9] Bekish, V. Ya. (1999). Metabolity gel'mintov kak veroyatnye mutageny polovykh kletok vladel'ca [Metabolites of helminths as probable mutagenes of the germ cells of the owner]. *Voprosy eksperimental'noj biologii i medicyny*. (P. 70–73). Vitebsk. [in Russian].
- [10] Bekish, V. Ya., & Bekish, O. -Ya. L. (2004). *Sostoyanie genoma vladel'ca pri gel'mintozakh [State of the owner's genome in helminthiasis]*. Vitebsk: Izd-vo VGMU. [in Russian].
- [11] Tarasova, M. N., Chistyakova, G. N., Remizova, I. I., Gazieva, I. A. (2007). Ocenka vliyaniya immunologicheskikh faktorov na strukturnuyu organizatsiyu khromatina spermatozoidov [Assessment of the influence of immunological factors on the structural organization of sperm chromatin]. *Immunologiya Urala Proceedings of the VI Conference of immunologists of the Urals*, 1(6), 165–167. [in Russian].

- [12] Bozhedomov, V. A., Nikolayeva, M. A., Ushakova, I. V., Sporish, E. A., Rokhlikov, I. M., Lipatova, N. A., et al. (2013). Etiologiya autoimmunogo muzhskogo besplodiya [Etiology of autoimmune male infertility] *Akusherstvo i ginekologiya*, 2, 68–76. [in Russian].
- [13] Novikov, P. D., Nikulin, Yu. T., Hotetovskaya, J. V., & Novikov, D. K. (2007). Immunodiagnostika toksokaroza [Immunodiagnosis of toxocarasis]. *Immunologiya, infektologiya, allergologiya*, 2, 65–72. [in Russian].
- [14] Adamenko, G. P., & Nikulin, Yu. T. (2004). Toksokaroz – neotlozhnaya problema obshchestvennogo zdravookhraneniya [Toksokaroz – an urgent public health problem]. *Medicinskie novosti*, 2, 31–36. [in Russian].
- [15] Stybel, V., Prijma, O., & Ponomar, S. (2014). Doslidzhennia kilkosti T- i B-limfotsytiv za diyi *Toxocara canis* [Studies quantities of T- and B-lymphocytes under the influence for action invasion *Toxocara canis*]. *Naukovyi visnyk LNUVMBT im. S.Z. Hzhyskoho*, 16, 3(60), 330–334. [in Ukrainian].
- [16] Natheva, L. V., & Lityagina, A. V. (2012). Kletochnye reakcii pri gel'mintozakh [Cellular reactions at helminthosis]. *Rossiyskij parazitologicheskij zhurnal*, 3, 80–86. [in Russian].
- [17] Savelyeva, N. N. (2016). Fagocitarnaya aktivnost' neitrofilov krovi u paciyentov s khronicheskim generalizovannym parodontitom I–II stepeni tyazhesti na fone parazitov [The phagocytic activity of blood neutrophils in patients with chronic generalized periodontitis of the 1st–2nd degree severity on the background of parasitoses]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 15(4), 80–87. [in Russian].
- [18] Vismont, F. I. (2006) *Vospalenie (patofiziologicheskie aspekty) [Inflammation (pathophysiological aspects)]*. Minsk: BGMU.
- [19] Frimel', G. N. (1984) *Immunologicheskie metody [Immunological methods]*. Moscow: Medicina. [in Russian].
- [20] Viksman, M. E., & Mayanskij, A. N. (1979). *Sposob ocenki funkcional'noj aktivnosti neitrofilov cheloveka po reakcii vosstanovleniya nitrosinego tetrazoliya [Way of estimating the functional activity of human neutrophils by the reduction reaction of nitroblue tetrazolium]*. Kazan': Kazanskij NIIE'M. [in Russian].
- [21] Narcissov, R. P. (1964) Citokhimicheskie issledovaniya lejkcitov [Cytochemical researches of leukocytes]. *Laboratornoe delo*, 3, 150–151. [in Russian].
- [22] Shubich, M. G. (1974) Vyyavlenie kationnogo belka v citoplazme lejkciotov s pomosh'h'yu bromfenolovogo sinego [Identification of cationic protein in cytoplasm of leukocytes with bromophenol blue]. *Citologiya*, 10, 1321–1322. [in Russian].
- [23] Zemskov, A. M., Zemskov, V. M., Chereshnev, V. A. (2011). *Rukovodstvo po klinicheskoy immunologii dlya klinicheskikh vrachej [Guide to Clinical Immunology for Clinical Physicians]*. Moscow: Triada-Kh. [in Russian].
- [24] Makepeace, B. L., Martin, C., Turner, J. D., Specht, S. (2012). Granulocytes in Helminth Infection – Who is Calling the Shots? *Curr Med Chem*. 19(10), 1567–1586.
- [25] Kreider, T., Anthony, R. M., Urban, J. F., Gause, W. C. (2007) Alternatively activated macrophages in helminth infections. *Curr Opin Immunol*. 19(4), 448–453.
- [26] Grishina, E. A., Dovgalev, A. S. (2016). Nekotoryye mekhanizmy vtorichnoy immunosupressii v protsesse khronizatsii geogel'mintozov [Certain mechanisms of secondary immunosuppression under chonisation of geohelminthiasis]. *Russian Journal of Parasitology*. 36 (2), 202–209. [in Russian].
- [27] Coakley, G., McCaskill, J. L., Borger, J. G., Simbari, F., Robertson, E., Millar, M., Harcus, Y., McSorley, H. J., Maizels, R. M., Buck, A. H. (2017). Extracellular Vesicles from a Helminth Parasite Suppress Macrophage Activation and Constitute an Effective Vaccine for Protective Immunity. *Cell Reports*. 19 (8), 1545-1557.