

УДК 616.147.22-007.64:616.681-007.41]-002.777-02

А.М. Гаврилюк¹, В.В. Чоп'як¹, Й.А. Наконечний¹, А.Й. Наконечний¹,
М. Фрончек², М. Курпіш²

Крипторхізм та варикоцеле: ще один погляд на причини старту аутоагресії

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

²Інститут генетики людини Академії наук Польщі, м. Познань

PAEDIATRIC SURGERY.2017.3(56):75-83; doi 10.15574/PS.2017.56.75

Мета: визначення ролі оксидативного стресу та запалення у патогенезі суб/інфертильності та формування аутоімунітету у пацієнтів з крипторхізмом та варикоцеле.

Матеріали і методи. Рівні малонового діальдегіду (МДА) та інтерлейкіну 6 (ІЛ-6) визначали в крові 48 хлопчиків з крипторхізмом та 20-ти здорових осіб. Семінальні параметри (рухливість, морфологію), рівні МДА та ІЛ-6 у крові визначалися у 22 хлопців з варикоцеле та 21 здорової особи. Статистична обробка проведена непараметричними методами з використанням стандартних комп'ютерних програм (Statistica Version 6, StatSoft, Inc.; SPSS Statistics 17.0, IBM).

Результати. Виявлено, що рівень МДА був достовірно підвищеним у крові хлопчиків з крипторхізмом порівняно з контрольною групою ($p=0,003$). Концентрація ІЛ-6 у сироватці крові пацієнтів у групі з двостороннім крипторхізмом була вищою порівняно з групою одностороннього крипторхізму ($p=0,001$). Рівні МДА, ІЛ-6 та семінальні параметри (низька рухливість, велика кількість патологічних форм сперматозоїдів) були вищими у пацієнтів з варикоцеле порівняно з контрольною групою ($p<0,05$; $p=0,011$).

Висновки. Рівень МДА підвищений в осіб з одностороннім та двостороннім крипторхізмом, а також у крові та сім'яній рідині пацієнтів з варикоцеле. Підвищений рівень МДА корелює з низькою рухливістю та підвищеною кількістю патологічних форм сперматозоїдів у пацієнтів з варикоцеле. Тенденція до підвищення рівня ІЛ-6 у крові хлопчиків з дво- та одностороннім крипторхізмом, а також у крові та сім'яній рідині пацієнтів з варикоцеле є вагомим фактором наявності оксидативного стресу та тригером аутоімунізації.

Ключові слова: крипторхізм, варикоцеле, МДА, ІЛ-6, оксидативний стрес, аутоімунізація, непліддя.

Cryptorchidism and varicocele: another look at the reasons for launching autoaggression

A.M. Havrylyuk¹, V.V. Chopyak¹, I.A. Nakonechnyi¹, A.I. Nakonechnyi¹, M. Fraczek², M. Kurpisz²

¹Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine

²Institute of Human Genetics PAS, Poznan, Poland

Objective. To determine the role of oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of subfertility/infertility and formation of autoimmunity in patients with cryptorchidism and varicocele.

Material and methods. Blood levels of MDA and IL-6 were measured in 48 boys with cryptorchidism and 20 healthy subjects. The spermal parameters (motility, morphology), blood levels of MDA and IL-6 were measured in 22 men with varicocele and 21 healthy subjects. The statistical processing was performed with using nonparametrical methods and standart computer programs (Statistica Version 6, StatSoft, Inc.; SPSS Statistics 17.0, IBM).

Results. We showed that the level of MDA was significantly higher in blood of the cryptorchidism group compared with the control group ($p=0.003$). The blood serum concentration of IL-6 in the group with bilateral cryptorchidism as compared to the group with unilateral cryptorchidism was higher ($p=0.001$). We revealed that the levels of MDA, IL-6 and seminal parameters (low motility, sperm abnormalities) was higher in patients with varicocele compared to the control group ($p<0.05$; $p=0.011$). In our opinion, MDA is the most reliable and decisive biochemical marker displaying oxidative damage in undescended testes and varicocele, and may be triggered by an autoimmune response.

Conclusions. The level of MDA is higher in blood of groups with bilateral and unilateral cryptorchidism, as well as in blood and seminal plasma of patients with varicocele. The higher level of MDA correlates with low motility and higher level of sperm abnormalities in patients with varicocele. The tendency of increased IL-6 level in blood of groups with bilateral and unilateral cryptorchidism, also in blood and seminal plasma of patients with varicocele is a ponderable factor of oxidative stress and a trigger of automunity.

Key words: cryptorchidism, varicocele, MDA, IL-6, oxidative stress, autoimmunity, infertility.

Крипторхизм и варикоцеле: еще один взгляд на причины старта аутоагрессии**А.М. Гаврилюк¹, В.В. Чопяк¹, И.А. Наконечный¹, А.И. Наконечный¹, М. Фрончек², М. Курпиш²**¹Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина²Институт генетики человека Академии наук Польши, г. Познань**Цель:** определение роли оксидативного стресса и воспаления в патогенезе суб/инфертильности и формирования аутоиммунитета у пациентов с крипторхизмом и варикоцеле.**Материалы и методы.** Уровни малонового диальдегида (МДА) и интерлейкина 6 (ИЛ-6) определяли в крови 48 мальчиков с крипторхизмом и 20 здоровых лиц. Семинальные параметры (подвижность, морфологию), уровни МДА и ИЛ-6 в крови были определены у 22 парней с варикоцеле и 21 здорового лица. Статистическая обработка данных проводилась непараметрическими методами с использованием стандартных компьютерных программ (Statistica Version 6, StatSoft, Inc.; SPSS Statistics 17.0, IBM).**Результаты.** Установлено, что уровень МДА был достоверно выше в крови мальчиков с крипторхизмом по сравнению с контрольной группой ($p=0,003$). Концентрация ИЛ-6 в сыворотке крови пациентов в группе с двусторонним крипторхизмом была выше по сравнению с группой одностороннего крипторхизма ($p=0,001$). Уровни МДА, ИЛ-6 и семинальные параметры (низкая подвижность, большое количество патологических форм сперматозоидов) были выше у пациентов с варикоцеле по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$; $p=0,011$).**Выводы.** Уровень МДА повышен в крови лиц с односторонним и двусторонним крипторхизмом, а также в крови и семенной жидкости пациентов с варикоцеле. Повышенный уровень МДА коррелирует с низкой подвижностью и повышенным количеством патологических форм сперматозоидов у пациентов с варикоцеле. Тенденция к увеличению уровня ИЛ-6 в крови мальчиков с двусторонним и односторонним крипторхизмом, а также в крови и семенной жидкости пациентов с варикоцеле является весомым фактором наличия оксидативного стресса и триггером аутоиммунизации.**Ключевые слова:** крипторхизм, варикоцеле, МДА, ИЛ-6, оксидативный стресс, аутоиммунизация, бесплодие.**Вступ**

У сучасній науковій літературі зустрічається дедалі більше даних про те, що крипторхизм і варикоцеле – захворювання, обумовлені анатомо-функціональними особливостями – у своєму патогенезі мають аутоімунний компонент. Найчастіше його пов'язують із наявністю антиспермальних антитіл у біологічних рідинах цих пацієнтів. Проте аутоантитілоутворення, яке розвивається у пацієнтів з цими захворюваннями, – не окремо взятий феномен, а наслідок суттєвих змін у їхньому біохімічному статусі та імунній системі.

Крипторхизм є важливим чинником ризику суб/непліддя. За умов норми, бар'єр кров-яєчко захищає від аутоімунізації, але при крипторхизмі клітини Сертолі модифікуються і формують слабкий бар'єр. Тому антигени та імунокомпетентні клітини все-таки просочуються, і зростає ризик аутоімунних реакцій [9]. У препубертатному періоді сироватка здорових хлопчиків може містити антиспермальні антитіла (АСАТ), але їх кількість при крипторхизмі підвищується [7]. Синтез АСАТ часто відбувається за наявності анатомічних вад (варикоцеле, крипторхизм тощо), після вазектомії, травми яєчок. Антитіла, які реагують з аутологічними спермальними антигенами, можуть бути тригерами запальних процесів, що викликають пошкодження тканини. Але потрібно вивчити ще й інші патологічні механізми, які призводять до руйнування тканини яєчка при крипторхизмі [10], бо наявність АСАТ у хлопчиків з крипторхизмом не завжди корелює із розвитком непліддя, коли вони досягають дорослого віку [21].

Ризик розвитку непліддя у хлопців з варикоцеле також пов'язують з наявністю АСАТ. Крім цього, виявлена позитивна кореляція між підвищенням рів-

ня активних форм кисню (АФК) у крові та сім'яній рідині і ступенем варикоцеле. Багатофакторний комплекс (гіпертермія, гіперперфузія і гіпоксія, гормональний дисбаланс, оксидативний стрес, підвищення апоптозу, екзогенні токсини, АСАТ) впливає на сперматогенез і функцію сперматозоїдів у чоловіків з варикоцеле [28,39].

Оксидативний стрес у чоловіків чітко пов'язаний з порушенням репродуктивної функції. Згідно із загальноприйнятою точкою зору, оксидативний стрес сперматозоїдів розвивається при порушенні динамічної рівноваги між окислювачами й антиоксидантами у сім'яній рідині, а його частота при чоловічому неплідді досягає 30–80%. Гіперпродукція активних форм кисню – вільних радикалів – може бути виявлена при багатьох патологічних станах, як пов'язаних з репродуктивною системою, так і не пов'язаних з нею безпосередньо. В еякуляті джерелами утворення активних форм кисню (АФК) є як самі сперматозоїди (при неправильній диференціації клітин під час стадій сперматогенезу), так і лейкоцити. Незначна генерація АФК необхідна для нормальної регуляції функції сперматозоїдів (капацитациі та акросомальної реакції). Однак надлишкова продукція АФК призводить до пошкодження мембрани сперматозоїдів, зниження їх рухливості і порушення запліднюючої здатності. Крім того, АФК безпосередньо пошкоджують ДНК хромосом та ініціюють опосередкований ендонуклеазами апоптоз сперматозоїдів, що призводить, у кінцевому підсумку, до непліддя [9,15].

Оксидативний стрес призводить до активації процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). При цьому в крові і тканинах зростає концентрація продуктів вільнорадикального окиснення, зокрема ма-

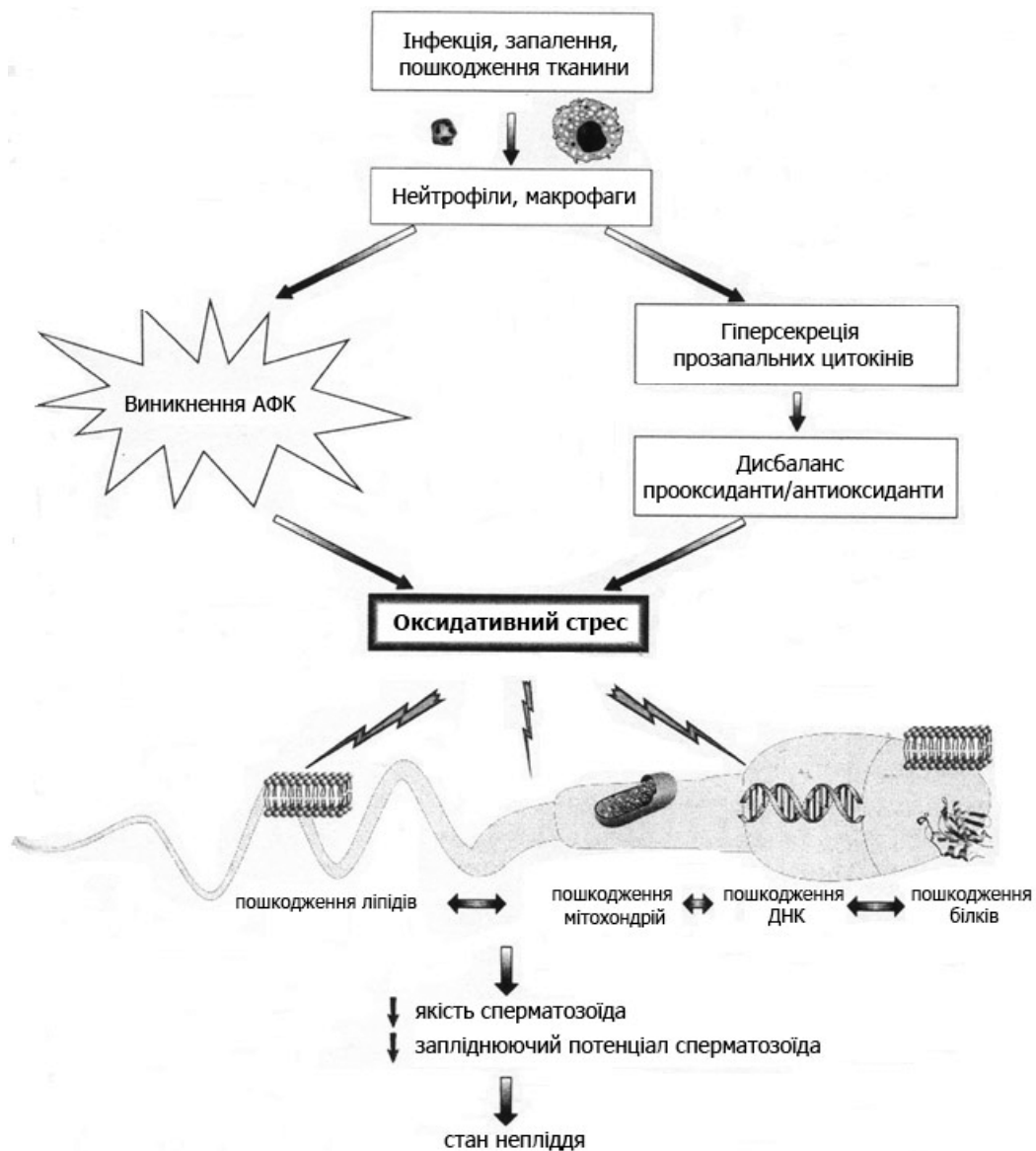


Рис. 1. Зв'язок між запальним процесом, оксидативним стресом та чоловічим непліддям, M. Fraczek et al. (2012) [11]

лонового діальдегіду (МДА). Ця речовина утворюється постійно, але в мінімальних кількостях. Малоновий діальдегід утворюється тільки із жирних кислот із трьома і більше подвійними зв'язками. Йому належить важлива роль у синтезі простагландинів, прогестерону та інших стероїдів. Негативна роль МДА полягає в тому, що він зшиває молекули ліпідів і знижує плинність мембрани. Вона стає більш крихкою, а зі зміною поверхні мембрани порушуються такі процеси, як фагоцитоз, піноцитоз, клітинна міграція та ін. [13] (рис. 1).

Інтенсивність процесів ПОЛ визначається за рівнем МДА. Особливо процеси ПОЛ інтенсифікуються при несприятливих місцевих чинниках – зміні кровопостачання яєчка, підвищеній температурі.

За даними літератури, підвищення температури яєчок при крипторхізмі та варикоцеле асоціювало-

ся із посиленням оксидативного стресу, який опосередковує пошкодження яєчок і майбутній сперматогенез [23,28]. Щоб вивчити рівень окисного стресу та запальної відповіді у хлопчиків з крипторхізмом і варикоцеле, а також здорових, досліджували такі біомаркери, як МДА та інтерлейкін-6 (ІЛ-6).

Метою роботи було виявити рівні МДА та ІЛ-6, їх вплив на формування аутоагресії та ризик суб/інфертильності у хлопчиків з крипторхізмом та варикоцеле.

Матеріали і методи дослідження

Обстежено 48 хлопчиків різного віку з крипторхізмом і 20 здорових хлопчиків відповідного віку. Однобічна вада діагностована у 71,8% пацієнтів, двобічна – у 28,2%. Діагностика, лікування і динамічне диспансерне спостереження за хворими про-

Урологія та гінекологія

Таблиця 1

Концентрації МДА та ІЛ-6 у крові хлопчиків з крипторхізмом (M±SD)

Показник	Група	Однобічний крипторхізм (n=34)	Двобічний крипторхізм (n=14)	Контроль (n=20)
МДА, мкмоль/л		3,49±5,22	4,03±3,68	2,55±4,05
ІЛ-6, пг/мл		3,48±6,5	7,7±6,86	2,57±2,8

Таблиця 2

Концентрації МДА та ІЛ-6 у крові хлопців з варикоцеле (M±SD)

Показник	Група	Пацієнти з варикоцеле (n=22)	Контрольна група (n=21)
МДА, мкмоль/л		3,27±0,44*	1,42±0,2
ІЛ-6, пг/мл		3,14±3,37	2,17±1,55

Примітка: * – достовірність різниці порівняно з контролем (p<0,05).

водилися на базі урологічного відділу Львівської комунальної міської дитячої клінічної лікарні та урологічного кабінету консультативної поліклініки названої установи.

Також обстежено 22 хворих на лівобічне варикоцеле. Контрольну групу склав 21 здоровий молодий чоловік. Вік пацієнтів становив 16–30 років. Діагностику та динамічне спостереження за хворими проводили на базі урологічного відділення Львівської обласної клінічної лікарні та андрологічного кабінету консультативної поліклініки названої установи. Діагноз варикоцеле виставляли на підставі огляду пацієнтів, зокрема зовнішніх статевих органів з оцінкою проби Вальсальви, результатів УЗД з доплерографією судин сім'яного канатика, еластографії яєчка і показників спермограми.

Аналіз еякуляту проводили згідно з рекомендаціями ВООЗ (2010).

Визначення концентрації цитокіну ІЛ-6 у сироватці крові та сім'яній рідині проводили імуноферментним методом. Використовували набори фірми WESTOR-BEST (Новосибірськ, Російська Федерація). Дослідження проводили згідно з інструкцією виробника. Для проведення аналізу використовували мікроплетфотометр SUNRISE TECAN (Австрія).

Дослідження виконані відповідно до принципів Гельсінської Декларації. Протокол дослідження ухвалений Локальним етичним комітетом (ЛЕК) всіх зазначених у роботі установ. На проведення досліджень було отримано поінформовану згоду батьків дітей (або їхніх опікунів).

Для визначення вмісту ТБК-позитивного продукту МДА до проб плазми крові додавали 0,5 мл 1% розчину тіобарбітурової кислоти в 50 мМ NaOH і 0,5 мл 2,8% розчину трихлороцтової кислоти. Отриману суміш витримували 20 хвилин на киплячій во-

дяній бані, охолоджували і визначали величину екстинції при 532 нм [2].

Статистичну обробку отриманих даних проводили непараметричними методами з використанням стандартних комп'ютерних програм (Statistica Version 6, StatSoft, Inc.; SPSS Statistics 17.0, IBM) з визначенням середнього арифметичного (M) та стандартного відхилення (SD).

Результати дослідження та їх обговорення

Концентрації МДА і ІЛ-6 визначали у 48 хлопчиків з крипторхізмом, контрольною групою були 20 здорових хлопчиків такого самого віку (табл. 1).

Середні рівні МДА були в межах 3,62±4,88 мкмоль/л у хлопчиків з крипторхізмом і 2,55±4,05 мкмоль/л у контрольній групі. Різниця між двома групами було статистично значущою – p=0,003. При дискретному аналізі оксидативного стресу залежно від виду крипторхізму було встановлено, що при двобічному крипторхізмі концентрація МДА була істотно вищою, ніж при однобічному, 4,03±3,68 мкмоль/л і 3,49±5,22 мкмоль/л відповідно, p=0,015.

Середня концентрація ІЛ-6 у сироватці крові хлопчиків з крипторхізмом була 4,49±6,80 пг/мл, тоді як в контрольній групі – 2,57±2,80 пг/мл. Різниця між цими двома групами була достовірною – p=0,019. Коли рівень ІЛ-6 додатково проаналізували залежно від форми крипторхізму, то було визначено, що середні значення ІЛ-6 значно вищі при двобічному крипторхізмі, ніж при однобічному, – 7,70±6,86 пг/мл і 3,48±6,50 пг/мл відповідно, p=0,001.

У сироватці крові хлопців з варикоцеле рівень МДА був вищим від контрольних значень (табл. 2).

Підвищене ПОЛ на загальному рівні, виявлене в обстежуваних групах, може впливати на репродуктивну функцію локально. Тому важливо було дослідити рівень МДА у сім'яній рідині і визначи-

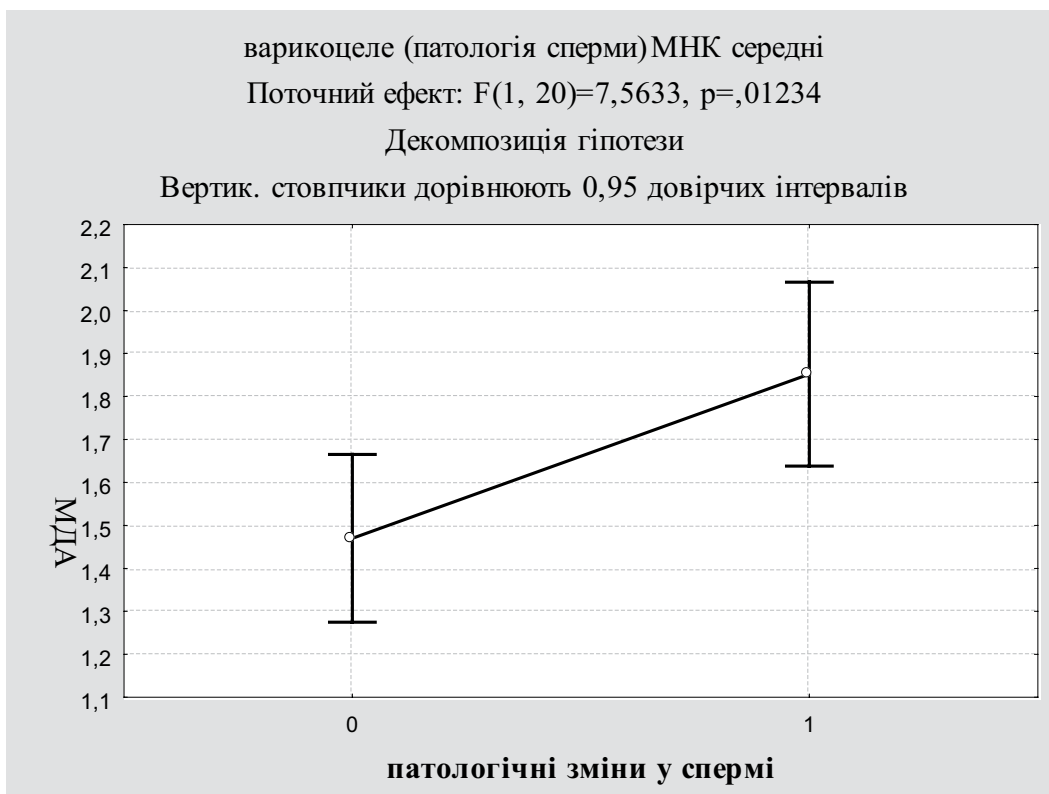


Рис. 2. Кореляційний зв'язок між рівнем малонового діальдегіду і патологічними змінами у спермограмі хлопців з варикоцеле

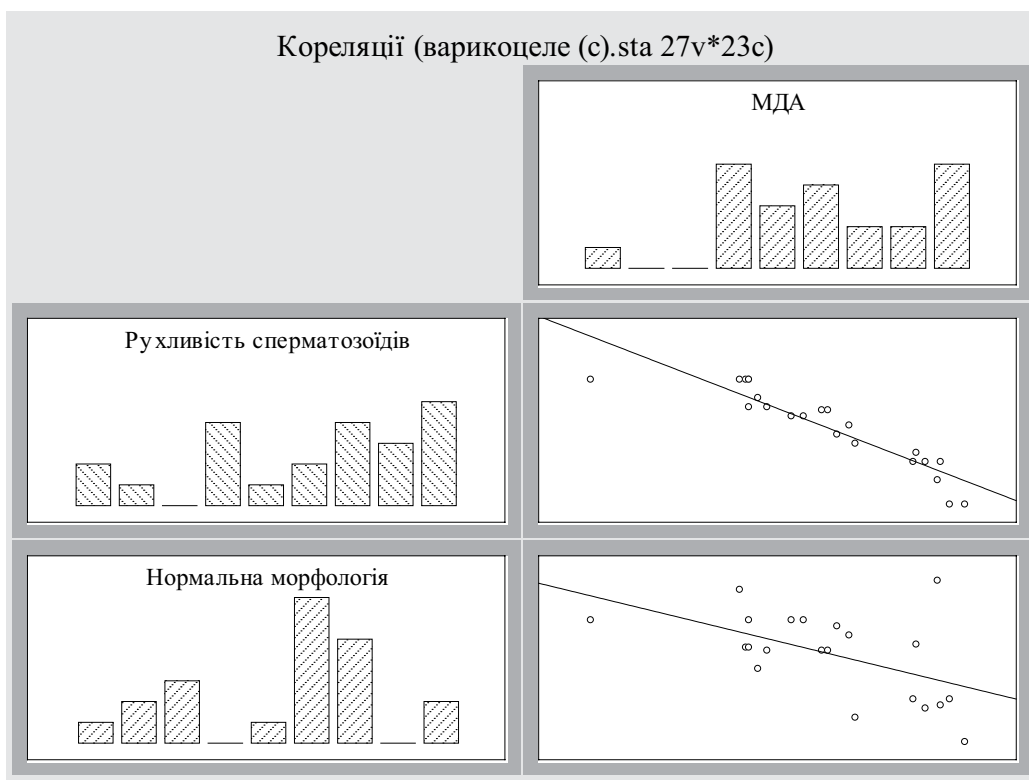


Рис. 3. Кореляційний зв'язок між рівнем малонового діальдегіду, рухливістю і морфологічною нормальністю сперматозоїдів у хлопців з варикоцеле

Урологія та гінекологія

Таблиця 3

Концентрації МДА та ІЛ-6 у сім'яній рідині хлопців з варикоцеле (M±SD)

Показник	Група	Пацієнти з варикоцеле (n=22)	Контрольна група (n=21)
МДА, мкмоль/л		1,64±0,37*	0,46±0,05
ІЛ-6, пг/мл		44±65,97	27,49±19,76

Показник: * – вірогідність різниці порівняно з контролем (p<0,05).

ти його вплив на функціональні показники сперматозоїдів, зокрема рухливість, а також морфологічні особливості.

Сім'яна рідина людини є природним резервуаром антиоксидантів, які захищають сперматозоїди від окислювального пошкодження. Клітинний оксидативний стрес проявляється, коли окислювачі пригнічують систему антиоксидативного захисту в клітинах. Надлишкові оксиданти можуть пошкоджувати нормальні функції сперматозоїдів, індукуючи апоптоз, ПОЛ мембран і фрагментацію ДНК. Малоновий діальдегід, який є показником ПОЛ і маркером оксидативного стресу, може бути діагностичним маркером для аналізу фертильного потенціалу у пацієнтів з астенозооспермією [30]. Рівень МДА в сім'яній рідині негативно корелює із життєздатністю сперматозоїдів, їх рухливістю [14] і позитивно – з аномаліями акросоми і наявністю залишкових цитоплазматичних крапель [23].

При аналізі сім'яної рідини хлопців з варикоцеле було виявлено, що рівень МДА в ній перевищує концентрацію у контрольній групі (табл. 3).

Закономірним, за нашими даними, було підвищення концентрації МДА у пацієнтів з варикоцеле, оскільки у них порушується кровопостачання, а отже є підґрунтя для виникнення оксидативного стресу. Водночас ПОЛ може впливати на якість еякуляту, зокрема на морфологічний і функціональний стан сперматозоїдів. У чоловіків із варикоцеле при дисперсійному аналізі була відзначена вірогідна пряма кореляційна залежність між рівнем МДА і виникненням змін у спермограмі (рис. 2). При цьому встановлено, що концентрація МДА вірогідно зворотно корелювала з відносною кількістю рухливих (R=-0,975833, p=0,000001), а також морфологічно повноцінних (R=-0,539170, p=0,011661) сперматозоїдів (рис. 3).

Отримані нами результати підтверджують патологічну роль оксидативного стресу. Він активує внутрішньоклітинні сигнальні каскади. Це призводить до посилення запалення [3,31] і/або загибелі гермінативних клітин, яке настає внаслідок запуску апоптозу за участю системи Fas-FasL, індукованої системою цитокінів, що тісно пов'язані з оксидативним стресом, зокрема ІЛ-6 [19,42]. Запальний процес

впливає на сперматогенез при крипторхізмі, бо в експерименті на мишах виявлено підвищену експресію ІЛ-6 [43].

Активні форми кисню індукують експресію Fas-рецептора і ліганда, стимулюючи Fas/FasL-опосередкований шлях апоптозу. Взаємодія Fas/FasL призводить до активації ефекторних каспаз 3, 6 або 7 [38], які руйнують клітини шляхом деградації білків [32]. Відміна апоптотичної дії Fas антиоксидантами підкреслює роль АФК у Fas-опосередкованому процесі загибелі [42]. У сім'яній рідині чоловіків із крипторхізмом в анамнезі виявлена експресія апоптотичних маркерів, що підтримує версію щодо крипторхізм-залежної індукції апоптозу [34].

Вплив продуктів ПОЛ на фертильність давно обговорюється. Зокрема підвищений рівень білків теплового шоку при крипторхізмі асоціюється з посиленням оксидативного стресу [27]. У пацієнтів, які перенесли орхіпексію, виявили підвищений рівень АФК [18] та пошкодження ДНК сперматозоїдів [16]. Оксидативний стрес також корелює зі зниженням продукції тестостерону [8]. Крипторхізм є загальновідомою причиною оксидативного стресу, а при відновленні кровотоку (спонтанному або хірургічному) відбувається приплив активованих лейкоцитів до обох яєчок [41]. Це сприяє збільшенню продукції АФК, у тому числі й сперматозоїдами, що призводить до некрозу зародкових клітин та до суб- або інфертильності [40]. Отже, оксидативний стрес і прозапальна цитокінова відповідь можуть у майбутньому спричинити суб- або непліддя у дітей з крипторхізмом.

Пацієнти з крипторхізмом в анамнезі, як правило, мають аномальну якість сперматозоїдів, але ці зміни варіюють залежно від одно- або двобічного крипторхізму. Азооспермія частіше виявлялася при двобічному, а також при затримці хірургічного втручання – орхіпексії [10,15].

Біомаркери оксидативного стресу у сім'яній рідині, у тому числі підвищення рівня АФК (супероксидного аніону, пероксиду водню, оксиду нітрогену), пероксидного окиснення ліпідів (МДА), окиснювальних пошкоджень ДНК (8-гідрокси-2' деоксигуанозин, 8-OHdG) і зниження антиоксидативної здатності (каталази, супероксиддисмутази, загаль-

ної антиоксидативної здатності) є вищими у неплідних чоловіків з варикоцеле, ніж у фертильних чоловіків або неплідних без варикоцеле [35,37]. Стан сім'яної рідини пацієнтів із варикоцеле відображає ознаки надмірного оксидативного стресу, навіть у чоловіків з нормозооспермією [37]. Високий рівень оксидативного стресу у сім'яній рідині неплідних чоловіків з варикоцеле викликає пошкодження ДНК сперматозоїдів. Пероксидне окиснення ліпідів відбувається в ділянці голівки і середній частині сперматозоїдів, змінюючи їхню морфологію і рухливість. Малоновий діальдегід вступає в реакцію зі сперміном та поліаміном, які необхідні для руху сперматозоїдів, утворюючи основи Schiff. Це призводить до зниження рН, а також до прямого пошкодження спермін-залежних клітинних функцій [5].

За даними літератури, при запаленні у найбільшій мірі продукцію МДА посилює цитокін фактор некрозу пухлин (ФНП- α) [26]. Підвищена концентрація ФНП- α пригнічує спонтанну й індуковану акросомальну реакцію навіть у нормальних сперматозоїдах [22], індукує їх апоптоз. Визначена позитивна кореляція між рівнем ФНП- α у сім'яній рідині і кількістю апоптичних сперматозоїдів [19]. Із цитокинами при варикоцеле-асоційованому неплідді може бути пов'язаний й оксидативний стрес. Фактор некрозу пухлин α реалізовує ряд механізмів пошкодження сперматозоїдів при варикоцеле: а) збільшення продукції оксиду азоту; б) сприяє посиленій експресії рецепторів TRAIL на яєчках при цитокін-опосередкованому апоптозі [22,33]. Патологічний вплив цитокін-опосередкованого оксидативного стресу при варикоцеле підтвердили дані експериментальних досліджень. Так, варикоцеле, індуковане на тваринній моделі, викликало збільшення експресії ІЛ-1 обох ізоформ – α і β) в яєчках [20]. Доведений взаємозв'язок між рівнями прозапальних цитокінів на місцевому та системному рівнях та розвитком непліддя [12].

Одним із найпотужніших прозапальних цитокінів є ІЛ-6. Цитокини ІЛ-1 та ФНП- α є факторами, які посилюють експресію ІЛ-6. Інтерлейкін 6 стимулює розвиток та функціонування Т- і В-лімфоцитів. Низькі дози ІЛ-6 мають регуляторну функцію, яка створює умови для нормального функціонування супресорних Т-клітин із фенотипами CD8+Foxp3+ та супресорних мієлоїдних клітин Gr+1CD11b, проте його високі рівні сприяють диференціації Т-хелперів 17-го порядку та пригнічують диференціацію Т-супресорно-регуляторних лімфоцитів. Інтерлейкін 6 можна розглядати як один із центральних компонентів патогенезу аутоімунних хвороб (діабет 1-го типу, хвороба Крона, системний

червоний вовчак, ревматоїдний артрит, множинний склероз, саркоїдоз), бо він впливає на рівень мРНК В-лімфоцитів та індукує біосинтез імуноглобулінів, як секреторного, так і циркулюючого типу, у тому числі аутоантитіл [1,4]. Прозапальні цитокини модулюють активність прооксидативних і антиоксидативних систем у бік оксидативного стресу, відповідального за постійне пероксидне пошкодження сперматозоїдів, з наслідками для їх фертильного потенціалу [11,24].

Однією з причин початку аутоімунізації у хлопчиків з крипторхізмом вважають виявлений взаємозв'язок між рівнем МДА у крові та аутоантигенезом. Реактивні форми кисню прямо та опосередковано модифікують біомолекули, включно з глікопротеїнами, білками та ДНК, і спричиняють їх пошкодження. Ці змінені молекули сприймаються імунною системою як неоаутоантигени, внаслідок чого синтезуються аутоантитіла. Зокрема антитіла до СА II (carbonic anhydrase – карбонатної ангідрози) є відомим маркером аутоімунних хвороб, таких як ревматоїдний артрит, хвороба Шегрена та первинний біліарний цироз [25]. Карбонатна ангідроза є поширеним цитозольним ізоферментом. Вважається, що оксидативний стрес є тригерним фактором їх синтезу. Виявлена позитивна кореляція між рівнями МДА та титром антитіл до СА II.

Таким чином, аутоімунізація у хлопчиків з крипторхізмом може розвиватися за такими механізмами: а) продукти ПОЛ модифікують білки та змінюють їх антигенні властивості; б) за принципом молекулярної мімікрії антитіла до СА II можуть перехресно реагувати з іншими чотирма ізоензимами СА у тканині яєчок; в) підвищенням експресії CD40L – молекули-ліганда з надродини ФНП на мембранах активованих Т-лімфоцитів, через яку В-лімфоциту передається стимул для зміни класу синтезованих антитіл на IgG. Ці процеси відіграють важливу роль у зсуві взаємоспіввідношень між імунною системою, запаленням та оксидативним стресом у хлопчиків з крипторхізмом у бік патології [25].

Отже, при крипторхізмі та варикоцеле відбувається суттєва зміна оксидативного статусу, яка опосередковано – через підвищення рівня МДА та асоціації з підвищенням прозапального цитокіну ІЛ-6 – сприяє активації імунної відповіді та старту аутоантитілоутворення.

Висновки

Рівень МДА у крові хлопчиків з однобічним і двобічним крипторхізмом, а також у крові і сім'яній рідині хлопців з лівобічним варикоцеле є підвищеним.

Урологія та гінекологія

Визначено, що підвищений рівень МДА у хлопців з варикоцеле вірогідно корелював зі зниженням рухливості та кількістю морфологічно нормальних сперматозоїдів.

Тенденція до підвищення ІЛ-6 у крові хлопчиків з однібічним і двобічним крипторхізмом, а також у крові і сім'яній рідині хлопців з лівобічним варикоцеле є вагомим чинником активації оксидативного стресу та тригером аутоімунізації.

Перспективи подальших досліджень

За нашими даними, оксидативний стрес і прозапальна цитокінова відповідь можуть у майбутньому спричинити суб- або непліддя у хлопчиків з крипторхізмом та варикоцеле. Подальші дослідження повинні проводитися у напрямку динамічного дослідження спермограм наших пацієнтів з крипторхізмом в анамнезі щодо виявлення змін основних функціональних та морфологічних параметрів сперматозоїдів залежно від одно- або двобічного крипторхізму та проведеного хірургічного втручання – орхіпексії. Важливо визначити рівні МДА та ІЛ-6 у сім'яній рідині дорослих з крипторхізмом в анамнезі. Також необхідне динамічне спостереження за цими показниками у пацієнтів після варикоцелектомії. Одночасне дослідження імунологічного, окисного і запального статусу сім'яної рідини дорослих пацієнтів після орхіпексії та варикоцелектомії може дати нове пояснення патофізіології формування суб- та інфертильності внаслідок оперативних втручань.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Література

1. Бережная Н.М. Семейства интерлейкинов: биология и онкогенез / Н.М. Бережная. – Киев: Наукова думка, 2013. – 574 с.
2. Сибірна Н.О. Дослідження окремих біохімічних показників за умов оксидативного стресу (навчально-методичний посібник) / Н.О. Сибірна, О.М. Маєвська, М.Л. Барська. Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2006. – 58 с.
3. Чоп'як В. В. Оцінка факторів ризику розвитку імунозалежних захворювань і апоптозу у молодих людей / В. В. Чоп'як, А. М. Гаврилюк, Я. Ф. Товстяк // Імунологія та алергологія. – 2008. – №3 дод.). – С. 24–30.
4. Чуклин С.Н. Интерлейкины / С.Н. Чуклин, А.А. Переяслов. – Львов: Лига-Пресс, 2005. – 481 с.
5. / С.У. Cheng, D.D. Mruk // Pharmacol Rev. – 2012. – Vol.64, №1. – P. 16–64.
6. Agarwal A. Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: a meta-analysis / A. Agarwal, S. Prabakaran, S.S. Allamaneni // Reprod Biomed Online. – 2006. – Vol.12. – P. 630–633.
7. An oligonucleotide microarray study on gene expression profile in mouse testis of experimental cryptorchidism / Y.C. Li, X.Q. Hu, L.J. Xiao [et al.] // Front. Biosci. – 2006. – Vol. 11. – P. 2465–2482.
8. Antisperm antibodies in prepubertal boys with cryptorchidism / A. Domagala, A. Havrylyuk, A. Nakonechnyi [et al.] // Arch. Androl. – 2006. – Vol.52, №6. – P. 411–416.
9. Apoptosis and cell removal in the cryptorchid rat testis / S.P. Chaki, M.M. Misro, D. Ghosh [et al.] // Apoptosis. – 2005. – Vol.10. – P. 395–405.
10. Cheng C.Y. The blood-testis barrier and its implications for male contraception
11. Cryptorchidism and semen quality: a TEM and molecular study / E. Moretti, G. Di Cairano, S. Capitani [et al.] // J. Androl. – 2007. – Vol.28. – P. 194–199.
12. Cytokines and oxidative stress in germ line / M. Fraczek, A. Czernikiewicz, M. Kurpisz // Studies on Men Health and Fertility / ed. By A. Agarwal [et al.]. – NY: Humana Press, 2012. – P. 179–205.
13. Cytokines in the Blood and Semen of Infertile Patients / A. Havrylyuk, V. Chopyak, Y. Boyko [et al.] // Central European Journal of Immunology. – 2015. – Vol. 40 (3). – P. 337–344.
14. Diagnosis and treatment of immunologically infertile women with sperm-immobilizing antibodies in their sera / H. Shibahara, J. Korryyama, Y. Shiraiishi [et al.] // J. ReprodImmunol. – 2009. – Vol.83. – P.139–144.
15. Differences in blood and semen oxidative status in fertile and infertile men, and their relationship with sperm quality / S. Benedetti, M.C. Tagliamonte, S. Catalani [et al.] // Reprod Biomed Online. – 2012. – Vol.25. – P. 300–306.
16. Effect of cryptorchidism and retractile testes on male factor infertility: a multicenter, retrospective, chart review / E. Caroppo, C. Niederberger, S. Elhanbly [et al.] // Fertil Steril. – 2005. – Vol.83. – P. 1581–1584.
17. Extent of sperm DNA damage in spermatozoa from men examined for infertility. Relationship with oxidative stress / R. Smith, H. Kaune, D. Parodi [et al.] // Rev. Med. Chil. – 2007. – Vol.135. – P. 279–286.
18. Fraczek M. Cytokines in the male reproductive tract and their role in infertility disorders / M. Fraczek, M. Kurpisz // Journal of Reproductive Immunology. – 2015. – Vol.108. – P. 98–104.
19. Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease / M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol [et al.] // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. – 2007. – Vol.39. – P. 44–84.
20. High percentage of apoptotic spermatozoa in ejaculates from men with chronic genital tract inflammation / J.P. Allam, F. Fronhoffs, A. Fathy [et al.] // Andrologia. – 2008. – Vol.40. – P. 329–334
21. Increased expression of interleukin-1alpha and interleukin-1beta is associated with experimental varicocele / Z. Sahin, C. Celik-Ozenci, G. Akkoyunlu [et al.] // Fertil. Steril. – 2006. – Vol.85. – P. 1265–1275.
22. Jiang H. Cryptorchidism is not a risk factor for antisperm antibody production in post-orchidopexy males with infertility / H. Jiang, W.J. Zhu // Urol Int. – 2013. – Vol.90. – P. 470–472.
23. Lampiao F. Effects of tumour necrosis factor alpha and interleukin-6 on progesterone and calcium ionophore-induced acrosome reaction / F. Lampiao, S.S. du Plessis // Int. J. Androl. – 2009. – Vol.32. – P. 274–277.
24. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in infertile men: correlation with semen parameter // F. Ben Abdallah, I. Dammak, H. Attia [et al.] // J. Clin. Lab. Anal. – 2009. – Vol.23. – P. 99–104.
25. Male genital tract inflammation: The role of selected interleukins in regulation of pro-oxidant and antioxidant enzymatic substances in seminal plasma / D. Sanocka, P. Jędrzejczak, A. Szumała-Kakol [et al.] // J. Androl. – 2003. – Vol. 24. – P. 448–455.
26. Malondialdehyde and CA II autoantibody levels are elevated in children with undescended testes / A. Alver, M. Imamoglu, Mentese Ah. [et al.] // World J. Urol. – 2014. – Vol.32. – P. 209–213.
27. Martinez P. Sperm lipid peroxidation and pro-inflammatory Cytokines / P. Martinez, F. Proverbio, M.I. Camejo // Asian J. Androl. – 2007. – Vol.9, №1. – P. 102–107.

28. Misro M.M. Germ cell death and their removal during initial stages of testicular ischemia and cryptorchidism: a comparative analysis / M.M. Misro, S.P. Chaki, D.K. Gautam // Indian J. Exp. Biol. – 2005. – Vol.43. – P. 1080–1087.
29. Molecular mechanisms involved in varicocele-associated infertility / M.M. Sheehan, R. Ramasamy, D.J. Lamb [et al.] // J. Assist. Reprod. Genet. – 2014. – Vol.31. – P. 521–526.
30. Peltola V. Abdominal position of the rat testis is associated with high level of lipid peroxidation / V. Peltola, N. Huhtaniemi, M. Ahotupa // Biol. Reprod. – 1995. – Vol.53. – P. 1146–1150.
31. Relationship between seminal antioxidant enzymes and the phospholipid and fatty acid composition of spermatozoa / H. Tavilani, M.T. Goodarzi, M. Doosti [et al.] // Reprod Biomed Online. – 2008. – Vol.16. – P. 649–656.
32. Riedl S.J. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis / S.J. Riedl, Y. Shi // Nat Rev. Mol. Cell Biol. – 2004. – Vol.5, №11. – P.897–907.
33. Role of caspases in male infertility / T.M. Said, U. Paasch, H.-J. Glander [et al.] // Human Reproduction Update. – 2004. – Vol.10, №1. – P. 39–51.
34. Role of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in the pathogenesis of varicocele-induced testicular dysfunction / O. Celik, O. Kutlu, M. Tekcan [et al.] // Asian J. Androl. – 2013. – Vol.15. – P. 269–274.
35. Semen apoptotic M540 body levels correlate with testis abnormalities: a study in a cohort of infertile subjects / F. Lotti, L. Tamburrino, S. Marchiani [et al.] // Hum. Reprod. – 2012. – Vol.27. – P. 3393–3402.
36. Semen quality and oxidative stress scores in fertile and infertile patients with varicocele / F.F. Pasqualotto, A. Sundaram, R.K. Sharma [et al.] // Fertil. Steril. – 2008. – Vol. 89. – P. 602–607.
37. Shiraishi K. Elevated scrotal temperature, but not varicocele grade, reflects testicular oxidative stress-mediated apoptosis / K. Shiraishi, H. Takihara, H. Matsuyama // World J. Urol. – 2010. – Vol.28. – P.359–364.
38. The assessment of oxidative stress in infertile patients with varicocele / Y. Sakamoto, T. Ishikawa, Y. Kondo [et al.] // BJU Int. – 2008. – Vol.101. – P.1547–1552.
39. The extracellular domains of FasL and Fas are sufficient for the formation of supramolecular FasL-Fas clusters of high stability / F. Henkler, E. Behrle, K.M. Dennehy [et al.] // J. Cell Biol. – 2005. – Vol.168, №7. – P.1087–1098.
40. The great debate: varicocele treatment and impact on fertility / M.A. Will, J. Swain, M. Fode [et al.] // Fertil. Steril. – 2011. – Vol.95. – P. 841–852.
41. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective / K. Tremellen // Hum Reprod Update. – 2008. – Vol.14, №3. – P.243–258.
42. Turner T.T. The molecular pathology of experimental testicular torsion suggests adjunct therapy to surgical repair / T.T. Turner, H.J. Bang, J.L. Lysiak // J. Urol. – 2004. – Vol.172. – P.2574–2578.
43. Um H.D. Fas mediates apoptosis in human monocytes by a reactive oxygen intermediate dependent pathway / H.D. Um, J.M. Orenstein, S.M. Wahl // J. Immunol. – 1996. – Vol.156, №9. – P.3469.
44. Veräjänkorva E. Cytokines in the BALB/c mouse testis in various conditions / E. Veräjänkorva, M. Martikainen, P. Pöllänen // Asian J. Androl. – 2001. – Vol.3 – P. 9–19.

Відомості про авторів:

Гаврилюк Анна Мирославівна – д.біол.н., доц. каф. клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Адреса: м. Львів, вул. Пекарська, 69.

Чоп'як Валентина Володимирівна – д.мед.н., проф., зав. каф. клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Адреса: м. Львів, вул. Пекарська, 69.

Наконечний Йосиф Андрійович – аспірант каф. урології ФПДО Львівського національного медичного університету імені Д. Галицького, Львівська обласна клінічна лікарня. Адреса: м. Львів, вул. Некрасова, 6.

Наконечний Андрій Йосифович – д.мед.н., проф., зав. каф. дитячої хірургії Львівського національного медичного університету імені Д. Галицького, Львівська комунальна міська дитяча клінічна лікарня. Адреса: м. Львів, вул. Пилипа Орлика, 4; тел.: (032) 291-70-50.

Фрончек Моніка – д.мед.н., ст.н.с. відділу біології репродукції та стовбурових клітин Інституту генетики людини Академії наук Польщі, м. Познань.

Курніш Мацей – д.мед.н., проф., керівник відділу біології репродукції та стовбурових клітин Інституту генетики людини Академії наук Польщі, м. Познань.

Стаття надійшла до редакції 15.04.2017 р.