

ВЛИЯНИЕ ТРИПСИНА НА ИММУННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ СПЕРМЫ У МУЖЧИН С НАРУШЕНИЕМ ФЕРТИЛЬНОСТИ

С. М. Бабич, В. А. Алейник, Г. М. Ходжиматов, Х. Н. Негматшаева, С. Р. Ибрагимова
Андижанский государственный медицинский институт, Андижан, Узбекистан

Ключевые слова: иммунные свойства спермы, нарушение фертильности, интерлейкиновый статус, трипсин, протеолитическая активность спермы, антипротеолитическая активность спермы.

Таянч сўзлар: сперма иммунитетлари, туғилишнинг салбийлиги, интерлейкин ҳолати, трипсин, сперма протеолитик фаоллиги, сперма антипротеолитик фаоллик.

Keywords: sperm immune properties, impaired fertility, interleukin status, trypsin, sperm proteolytic activity, sperm antiproteolytic activity.

У мужчин, имеющих нарушение фертильности, изучали в эякуляте протеолитическую и антипротеолитическую активность, а также показатели про- и противовоспалительных интерлейкинов после лечения их препаратом трипсин. У мужчин с нарушением фертильности отмечается снижение общей протеолитической активности и нарастание антипротеолитической активности спермы. Нарастание антипротеолитической активности в большей мере связано с местной и системной реакцией на воспалительный процесс, но в меньшей степени с ингибированием протеаз спермы. После лечения трипсином у мужчин с нарушением фертильности отмечалось снижение антипротеолитической и увеличение протеолитической активности спермы. Применение препарата трипсина в качестве иммунокорректирующего фактора спермы мужчин способствует улучшению её иммунных характеристик.

ФЕРТИЛЛИКДА БУЗИЛИШИ БЎЛГАН ЭРКАКЛАРДА ТРИПСИННИ СПЕРМАНИНГ ПРОТЕОЛИТИК АКТИВЛИГИГА ВА ИММУН ХАРАКТЕРИСТИКАСИГА ТАЪСИРИ

С. М. Бабич, В. А. Алейник, Г. М. Ходжиматов, Х. Н. Негматшаева, С. Р. Ибрагимова
Андижон давлат тиббиёт институти, Андижон, Ўзбекистон

Фертиллик бузилиши бўлган эркеклар эякулятида протеолитик ва антипротеолитик активлиги ўрганилди, шунингдек трипсин препарати билан даволангандан кейин яллиғланишдан олдинги ва яллиғланишга қарши интерлейкинларнинг кўрсаткичлари ўрганилди. Фертиллик бузилиши бўлган эркекларда умумий протеолитик активлик камайиши ва спермада антипротеолитик активлик ортиши кузатилади. Антипротеолитик активликнинг ортиши кўп тарафдан яллиғланиш жараёнига маҳаллий ва умумий реакция билан боғлиқ, кам даражада спермани протеаза билан ингибирланишига боғлиқ. Трипсин билан даволангандан кейин Фертиллик бузилиши бўлган эркекларда антипротеолитик активлик камайиши ва протеолитик активликни ортиши кузатилади. Трипсин препаратларининг спермага иммунокоррекцияловчи омил сифатида қўлланилиши эркекларда унинг иммун характеристикасининг яхшиланишига таъсир этади.

EFFECT OF TRYPsin ON IMMUNE CHARACTERISTICS AND PROTEOLYTIC ACTIVITY OF SPERM IN MEN WITH FERTILITY DISORDER

S. M. Babich, V. A. Aleynik, G. M. Khodzhimatov, Kh. N. Negmatshaeva, S. R. Ibragimova
Andijan state medical institute, Andijan, Uzbekistan

In men with impaired fertility, proteolytic and anti-proteolytic activity was studied in the ejaculate, as well as the rates of pro- and anti-inflammatory interleukins after their treatment with trypsin. In men with impaired fertility, there is a decrease in total proteolytic activity and an increase in the antiproteolytic activity of sperm. The increase in antiproteolytic activity is more associated with the local and systemic reaction to the inflammatory process, but to a lesser extent with the inhibition of sperm proteases. After treatment with trypsin in men with impaired fertility, there was a decrease in antiproteolytic and an increase in the proteolytic activity of sperm. The use of trypsin as an immuno-corrective factor of male sperm helps to improve its immune characteristics.

Известно, что нормальная имплантация и последующее развитие эмбриона и плода обеспечиваются уникальными иммунологическими механизмами, в частности включающими влияние компонентов семенной плазмы (СП), на репродуктивную функцию женщины. Долгое время СП рассматривалась, прежде всего, как транспортная среда, обеспечивающая возможность прохождения сперматозоидов через слизистый барьер цервикального канала, направленный трафик сперматозоидов и выживаемость их во «враждебной» среде женского

репродуктивного тракта. Тем не менее, накопленные за последние годы факты значительно расширили существовавшие ранее представления [1].

Семенная плазма содержит активные иммунорегуляторные факторы, придающие ей уникальные свойства и позволяющие проявлять иммуносупрессорные и противовоспалительные свойства – простагландины, цитокины, – росттрансформирующие факторы, интерлейкины (ИЛ) и их растворимые рецепторы. Плазменная фракция спермы является богатым источником цитокинов, концентрация отдельных цитокинов в семенной жидкости значительно превышает аналогичные сывороточные концентрации, что указывает на потенциальную роль цитокинов в репродуктивной физиологии человека [3,5].

В настоящее время показано, что в сперме баланс между протеазами и их ингибиторами имеет важное значение. Изменение этого баланса, связанного с нарушением контроля протеолитической активности в семенной жидкости, приводит к нарушению разжижения спермы, изменению подвижности сперматозоидов и к бесплодию у человека [2].

Развитие инфекционных и воспалительных процессов сопровождается высвобождением и активацией большого семейства протеаз, которые играют основную роль в деградации компонентов экстрацеллюлярного матрикса, определяя характер и прогноз течения заболеваний. Регуляция уровня активности протеаз осуществляется многочисленными системными и местными ингибиторами, которые предупреждают чрезмерный протеолиз, поддерживая целостность органа-мишени [2].

Эти исследования указывают на возможность влияния через интерлейкиновый статус в тканях на состояние местного иммунитета. Предполагается, что этот механизм принимает участие в эффектах протеиназ при лечении нарушений фертильности у мужчин, имеющих в сперме отклонения, связанные с воспалительными и аутоиммунными состояниями.

Цель исследования: у мужчин, имеющих нарушение фертильности, изучить в эякуляте протеолитическую и анти-протеолитическую активность, а также показатели про- и противовоспалительных интерлейкинов после лечения их препаратом трипсин.

Материал и методы. В рамках изучения причин нарушения фертильности у семейных пар, были обследованы 49 мужчин, у которых были исследованы 49 эякулятов. Все обследованные мужчины были разделены на 3 группы. В 1 группу вошли 19 мужчин с подтвержденной фертильностью, они имели нормальные показатели спермограммы и содержания лейкоцитов. Во 2 группу вошли 16 мужчин, у жен которых было 2 и более выкидыша, а у мужчин имелись нормальные показатели спермограммы и содержания лейкоцитов. 3 группу составили 14 мужчин, у жен которых в анамнезе не было беременностей, у мужчин отмечена субфертильность, сперма имела повышенную вязкость и повышенное содержание лейкоцитов.

В сперме до и после лечения препаратом трипсин определяли показатели интерлейкинов: провоспалительных - интерлейкин-1бета (ИЛ-1), фактор некроза опухолей- α (ФНО- α), и противовоспалительных - интерлейкин -10 (ИЛ-10) методом ИФА с использованием тест-систем ЗАО “Вектор-Бест”.

В сперме определяли также протеолитическую активность (ОПА) казеинолитическим методом по учету продуктов гидролиза казеина в единицах активности (Ед) по тирозину, ингибиторную - анти-протеолитическую - активность (АПА) также казеинолитическим методом, Ингибиторную активность выражали в ингибиторных единицах (ИЕд) по трипсину и по папаину [4, 6].

Препарат трипсин назначали мужчинам 2 и 3 групп в дозе 5 мг в/м 1 раз в день, курсом 15 дней.

Полученные данные подвергались статистической обработке с использованием стандартных программ Microsoft Excel 2007 с вычислением средних величин (М), их средних ошибок (m), а также коэффициента достоверности разности средних величин Стьюдента-Фишера (t).

Результаты и их обсуждение. Полученные данные показали (табл. 1), что средний

показатель провоспалительного интерлейкина ФНО- α в сперме мужчин второй группы был достоверно выше, чем у мужчин первой группы, а у мужчин третьей группы еще более высокий по сравнению с первой группой и достоверно выше, чем во второй группе ($P<0,001$).

После лечения трипсином отмечалось достоверное снижение показателей ФНО- α у мужчин второй и третьей групп относительно показателей до лечения ($P<0,001$).

Аналогичные тенденции динамики отмечены и по средним показателям ИЛ-1 β в сперме мужчин второй и третьей групп (табл. 1) ($P<0,01$).

Таблица 1.

Изменение показателей TGF- β 1 и интерлейкинового статуса в сперме мужчин исследуемых групп до и после лечения трипсином

	1 контрольная группа	2 группа		3 группа	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
ФНО пг/мл	14,2 $\pm$ 1,3	21,8 $\pm$ 1,9*	14,9 $\pm$ 1,2**	29,7 $\pm$ 3,1*	17,1 $\pm$ 1.6**
ИЛ-1 пг/мл	27,3 $\pm$ 2,5	39,5 $\pm$ 3,6*	28,3 $\pm$ 2,5**	46,3 $\pm$ 5,2*	31,2 $\pm$ 2.7**
ИЛ-10 пг/мл	47,2 $\pm$ 4,5	32,8 $\pm$ 3,1*	43,7 $\pm$ 4.2**	62,5 $\pm$ 5,9*	85,3 $\pm$ 7.4**
TGF- β 1 нг / мл	28,3 $\pm$ 3,1	16,8 $\pm$ 1,9*	22,4 $\pm$ 2.5	21,7 $\pm$ 1,8	25,1 $\pm$ 2.9

Примечание: * - достоверно отличающиеся величины относительно показателей 1 группы;

** - достоверно отличающиеся величины относительно показателей до лечения.

После лечения трипсином также отмечено снижение показателей ИЛ-1 β у мужчин второй и третьей групп относительно соответствующих показателей до лечения ($P<0,05$). Показатели у мужчин третьей группы превышали показатели мужчин второй группы.

Показатели противовоспалительного ИЛ-10 в сперме мужчин второй группы были ниже как до лечения, так и после относительно показателей контрольной и третьей группы (табл. 1). Тогда как показатели третьей группы были выше и первой, и второй групп как до, так и после лечения. Необходимо отметить, что показатель ИЛ-10 был значительно выше, особенно относительно второй группы ($P<0,05$).

Показатели TGF- β 1 в составе спермы мужчин второй группы (таб. 1) были достоверно ниже по сравнению с таковыми показателями первой группы ($P<0,05$), однако у мужчин третьей группы, наблюдались недостоверно меньшие показатели TGF- β 1 по сравнению с первой группой.

После лечения трипсином у мужчин второй группы в составе спермы показатели TGF- β 1 недостоверно повышались по сравнению с подобными значениями до лечения. Похожие изменения недостоверного повышения TGF- β 1 по сравнению с таковыми значениями до лечения отмечались и в 3 группе.

Также результаты исследования показали, что средние показатели ОПА спермы мужчин второй группы до лечения трипсином были достоверно ниже по сравнению с первой (контрольной) группой мужчин ($P<0,001$) (табл. 2). После лечения трипсином у мужчин второй группы показатели ОПА спермы достоверно повышались относительно значений до лечения, но оставались ниже, чем в контрольной группе.

У мужчин третьей группы до лечения трипсином также наблюдались достоверно более низкие значения ОПА спермы по сравнению с показателями мужчин контрольной группы ($P<0,01$) (табл. 2). После лечения трипсином у мужчин третьей группы показатели ОПА спермы по сравнению с данными до лечения достоверно повышались ($P<0,05$), но оставались несущественно ниже контроля.

В этих же исследованиях показатели антипротеолитической активности по трипсину спермы мужчин второй группы до лечения были достоверно выше по сравнению с первой группой мужчин ($P<0,05$) (табл. 2). После лечения трипсином у мужчин этой группы показатели антипротеолитической активности по трипсину спермы, по сравнению с таковыми

Таблица 2.

Изменение показателей общей протеолитической активности (ОПА) и антипротеолитической активности (АПА) спермы мужчин с нарушением фертильности до и после лечения трипсином

	1 контроль- ная группа	2 группа		3 группа	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
ОПА Ед /мл	121,6 ± 11,7	58,4 ± 6,1*	104,9±9,8**	73,5 ± 6,9*	112,3±10,8**
АПА ИЕд/мл по трипсину	51,2 ± 4,8	84,6 ± 8,2*	56,1±5,8**	67,3 ± 7,1*	48,6±4,3**
АПА ИЕд/мл по папаину	33,5 ± 2,8	52,7 ± 4,9*	35,9± 3,1**	67,3 ± 7,1*	41,3±3,8**

Примечание: * - достоверно отличающиеся величины относительно показателей первой (контрольной) группы;

** - достоверно отличающиеся величины относительно показателей до лечения.

значениями до лечения, достоверно снижались, приближаясь по величине к показателям контроля.

У мужчин третьей группы показатели антипротеолитической активности по трипсину до лечения были недостоверно выше относительно показателей первой группы мужчин ($P>0,05$). После лечения трипсином у мужчин третьей группы показатели антипротеолитической активности спермы по трипсину по сравнению со значениями до лечения незначительно, но достоверно снижались ($P<0,05$).

Показатели антипротеолитической активности по папаину спермы мужчин второй группы до лечения трипсином были достоверно выше по сравнению с показателями первой группы мужчин ($P<0,01$) (табл. 2). После лечения трипсином у мужчин второй группы показатели антипротеолитической активности по папаину относительно значений до лечения достоверно снижались ($P<0,05$).

У мужчин третьей группы показатели антипротеолитической активности по папаину до лечения трипсином были незначительно выше по сравнению с таковыми значениями первой группы мужчин ($P<0,001$) (табл. 2). После лечения трипсином у мужчин третьей группы показатели антипротеолитической активности по папаину спермы по сравнению со значениями до лечения достоверно снижались ($P<0,01$).

Таким образом, применение препарата трипсин способствует снижению показателей провоспалительных интерлейкинов в сперме и повышению содержания противовоспалительных интерлейкинов, а также незначительному увеличению TGF- β 1.

Из полученных данных также видно, что показатели ОПА спермы снижены в большей мере у мужчин с нарушением фертильности. После лечения трипсином у этих мужчин отмечалось значительное восстановление ОПА. Снижение ОПА спермы, но в меньшей степени, сохраняется и у мужчин с нарушением фертильности, но с отсутствием выраженных воспалительных явлений по результатам спермограммы. После лечения трипсином у этих мужчин так же отмечалось значительное восстановление ОПА.

Значительное увеличение антипротеолитической активности спермы по трипсину отмечалось у мужчин с нарушением фертильности и выраженным воспалительным процессом, проявляющемся в повышенном количестве лейкоцитов по результатам спермограммы, после лечения трипсином показатели антипротеолитической активности по трипсину существенно снижались. У мужчин с нарушением фертильности, но без выраженных проявлений воспаления антипротеолитическая активность спермы по трипсину была незначительно выше, а после лечения трипсином снижалась.

Исходя из этого полученные нами данные антипротеолитической активности спермы по папаину и трипсину можно интерпретировать таким образом, что при лечении трипсином принимают участие в большей степени системные механизмы защиты у мужчин с нарушением фертильности, но без выраженных проявлений воспаления, а местные механизмы - в большей степени у мужчин с нарушением фертильности и выраженным воспалительным процессом, проявляющемся в повышенном количестве лейкоцитов по результатам спермограммы,

Вывод. Применение препарата трипсина в качестве иммунокорректирующего фактора спермы мужчин способствует улучшению её иммунных характеристик.

У мужчин с нарушением фертильности отмечается снижение общей протеолитической активности и нарастание антипротеолитической активности спермы. Нарастание антипротеолитической активности в большей мере связано с местной и системной реакцией на воспалительный процесс, но в меньшей степени с ингибированием протеаз спермы. После лечения трипсином у мужчин с нарушением фертильности отмечалось снижение антипротеолитической и увеличение протеолитической активности спермы.

Использованная литература:

1. Бабаян А.А., Смольникова В.Ю. и др. Влияние иммунорегуляторных свойств семенной плазмы на репродуктивную функцию женщин// Гинекология, 2012, №4, С. 80-84.
2. Choi K.Y, Swierczewska M, Lee S. Chen X. Protease-activated drug development//Theranostics, 2012; 2: 156–178.
3. Eggert-Kruse W., Boit R., Rohr G., Aufenanger J., Hund M., Strowitzki T. Relationship of seminal plasma interleukin (IL) -8 and IL-6 with semen quality// Hum. Reprod.,2001; 16(3):517-528.
4. Krol J., Kowalski R., Demska-Zakęś K., Hliwa P., Glogowski J. Proteolytic and anti-proteolytic activity in the seminal plasma of Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) during the spawning period. Czech J. Anim. Sci., 2011, vol. 56, №9, 390–397.
5. Robertson SA. Seminal plasma and male factor signalling in the female reproductive tract// Cell Tissue Res 2005; 322: 43–52.
6. Shadmanov A., Aleynik V., Babich S. at all. Therapeutic effects on performance wobenzym proteolytic and antiproteolytic activity in men with sperm impaired fertility. European applied sciences, Stuttgart, Germany, 2014, no 3, 47-48.