10.15789/1563-0625-IMO-3137

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОКИСЛЕННОГО ДЕКСТРАНА ПРИ НАРУШЕНИЯХ СПЕРМАТОГЕНЕЗА ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ГЕНЕЗА

Чурина Е. Г. [1, 2],
Уразова О. И. [1],
Новикова Е. Г. [3, 4],
Селятицкая В. Г. [3],
Троицкий А. В. [3],
Быстрова Т. Н. [3]

[1] ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ г. Томск, Россия.
[2] ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» г. Томск, Россия.
[3] ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия.
[4] ООО «Региональный Медико-Диагностический Центр», г. Новосибирск, Россия.

ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

IMMUNOLOGICAL MECHANISMS OF THERAPEUTIC EFFICACY OF OXIDIZED DEXTRAN IN SPERMATOGENESIS DISORDERS OF INFECTIOUS AND INFLAMMATORY GENESIS

Churina E. G. [a, b],
Urazova O. I. [a],
Novikova E. G. [c, d],
Selyatitskaya V. G. [c],
Troitsky A. V. [c],
Bystrova T. N. [c]

[a] Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.
[b] National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation.
[c] Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation.
[d] Regional Medical Diagnostic Center, Novosibirsk, Russian Federation.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

Резюме

В статье обобщены экспериментальные и клинические данные о фармакологических свойствах окисленного декстрана. Основной акцент сделан на иммунологическом механизме действия окисленного декстрана, в частности на его способности селективно активировать тканевые макрофаги, в том числе тестикулярные макрофаги, которые непосредственно участвуют в сперматогенезе. В экспериментальной части работы на модели нарушения сперматогенеза у крыс индуцированного введением эндотоксина Escherichia coli, показано, что окисленный декстран значительно снижает патоморфологические изменения в семенниках. При этом подобный эффект связан с активацией тканевых макрофагов и выделения ими соответствующих цитокинов, которые направлены на купирование воспалительного процесса и нормализацию микроциркуляторной гемодинамики. Представленные экспериментальные данные коррелируют с данными о высокой клинической эффективности окисленного декстрана при нарушениях сперматогенеза и мужском бесплодии. В клинической части работы по влиянию ректального введения окисленного декстрана у пациентов с тяжелыми нарушениями сперматогенеза показано, что окисленный декстран существенно увеличивает объем эякулята, концентрацию сперматозоидов в эякуляте, и общее количество сперматозоидов. При этом окисленный декстран также способствует снижению количества лейкоцитов при анализе спермограмм и существенно снижает агглютинацию сперматозоидов, что свидетельствует о купировании хронического инфекционно-воспалительного процесса у андрологических больных с бесплодием. Авторы связывают данные экспериментальных и клинических исследований в рамках единой концепции активации тканевых макрофагов и возможностью макрофагов менять свой фенотип в зависимости от микроокружения и особенностей течения инфекционно-воспалительного процесса. Такой подход подтверждается также клиническими данными о влиянии фенотипов макрофагов на лекарственную резистентность и тяжесть течения внутриклеточных инфекций, в частности туберкулеза. Анализ экспериментальных и клинических данных позволяет авторам предложить теоретическую модель механизма терапевтической эффективности окисленного декстрана при внутриклеточных инфекциях, которые наиболее часто встречаются в андрологической практике и являются тригерным фактором фатальных нарушений сперматогенеза, приводящих к мужскому бесплодию. Представленные авторами экспериментальные и клинические данные позволяют рассматривать окисленный декстран как весьма эффективное средство для лечения внутриклеточных инфекций, в том числе урогенитальных инфекций, вызывающих мужское бесплодие.

Ключевые слова: окисленный декстран, нарушения сперматогенеза, воспаление, инфекции, механизм действия, активация макрофагов, фенотипы макрофагов.

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

Abstract

The article summarizes experimental and clinical data on the immunological properties of oxidized dextran. The main emphasis is on the pathophysiological mechanism of action of oxidized dextran, in particular on its ability to selectively activate tissue macrophages, including testicular macrophages, which are directly involved in spermatogenesis. In the experimental part of the work on the model of spermatogenesis disorders in rats induced by the introduction of Escherichia coli endotoxin, it was shown that oxidized dextran significantly reduces pathomorphological changes in the testes. At the same time, such an effect is associated with the activation of tissue macrophages and the release of corresponding cytokines, which are aimed at stopping the inflammatory process and normalizing microcirculatory hemodynamics. The presented experimental data correlate with the data on the high clinical efficacy of oxidized dextran in spermatogenesis disorders and male infertility. In the clinical part of the work on the effect of rectal administration of oxidized dextran in patients with severe spermatogenesis disorders, it was shown that oxidized dextran significantly increases the volume of ejaculate, the concentration of spermatozoa in the ejaculate, and the total number of spermatozoa. The authors link the data of experimental and clinical studies within the framework of a single concept of tissue macrophage activation and the ability of macrophages to change their phenotype depending on the microenvironment and the characteristics of the infectious and inflammatory process. This approach is also confirmed by clinical data on the effect of macrophage phenotypes on drug resistance and the severity of intracellular infections, in particular tuberculosis. The analysis of experimental and clinical data allows the authors to propose a theoretical model of the mechanism of therapeutic effectiveness of oxidized dextran in intracellular infections. The experimental and clinical data presented by the authors allow us to consider oxidized dextran as a very effective means for the treatment of intracellular infections, including urogenital infections causing male infertility.

Keywords: oxidized dextran, spermatogenesis disorders, inflammation, infections, mechanism of action, macrophage activation, macrophage phenotypes.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

1 **Введение**

В настоящее время среди этиологических факторов нарушения сперматогенеза инфекционно-воспалительные процессы рассматриваются как наиболее распространенные. Причем это относится не только к урогенитальным инфекциям, то также и к любым хроническим инфекционным процессам, вызываемых как бактериями и патогенными грибами, так и вирусами. Уже установлена корреляция мужской фертильности с герпесом, который исходно протекает в хронической форме [3]. Имеются данные о нарушениях сперматогенеза после перенесенных острых респираторных вирусных инфекций, включая COVID-19 [1,2]. В ряду внутриклеточных инфекций, оказывающих негативное влияние на сперматогенез следует отметить, прежде всего, туберкулез и кандидоз [4,10,11]. Несмотря на морфологическое разнообразие инфекционных агентов, вызывающих нарушения сперматогенеза, от простейших вирусов до патогенных грибов можно выделить их общий характер влияния на иммунологический статус организма. В частности, речь идет о хронических воспалительных процессах, протекающих на фоне повышенной сенсибилизации с аутоиммунным компонентом в сочетании со снижением естественных механизмов иммунобиологической резистентности к инфекциям, в частности снижением активности клеточного звена иммунитета. Последнее, в основном, связано со снижением фагоцитарной активности макрофагов и незавершенностью фагоцитоза вследствие блокирования инфекционным агентом фагосомо-лизосомального слияния в макрофагах. Если учесть, что макрофаги способны в зависимости от микроокружения менять свой фенотип с М1 (индукция преимущественно провоспалительных цитокинов) на М2 фенотип (индукция преимущественно противовоспалительных цитокинов), то становится очевидным, что поляризация макрофагального звена клеточного иммунитета может быть ключевым звеном при нарушениях сперматогенеза инфекционно-воспалительного генеза. При этом механизмы нарушения сперматогенеза могут носить как системный характер под влиянием цитокинового профиля крови, так и локальный статус на уровне герминативного эпителия яичек. Как известно тестикулярные макрофаги являются важным звеном в процессе сперматогенеза, напрямую влияющими на сперматогенез. И в этом аспекте поляризация фенотипов тестикулярных макрофагов под действием измененного в результате инфекционно-воспалительного процесса системного характера цитокинового профиля может играть доминирующую роль в нарушении сперматогенеза [14]. Если учесть, что оксид азота является стимулятором выработки тестостерона клетками Лейдига, то очевидно, что снижение активности популяции макрофагов в целом и тестикулярных макрофагов в частности, является основным патофизиологическим механизмом хронизации инфекционно-воспалительного процесса и его негативного влияния на сперматогенез [14]. В связи с этим поиск эффективных и селективных активаторов макрофагов является весьма перспективным с патофизиологической точки зрения. В качестве

перспективного фармакологического кандидата на роль активатора макрофагов с динамической поляризацией макрофагов для нас представлял интерес окисленный декстран. Окисленная форма декстрана проявляет высокую противовоспалительную активность, но при этом она не только усиливает фагоцитарную активность макрофагов, но и дополнительно повышает частоту фагосомо-лизосомальных слияний в макрофагах, что крайне важно для эффективной борьбы с внутриклеточными инфекциями. Окисленная форма декстрана является основным биологически активным компонентом препарата Андроэксперт, который по имеющимся клиническим наблюдениям являются эффективным средством лечения калькулезного простатита и восстановления сперматогенеза, особенно на фоне перенесенных инфекционно-воспалительных заболеваний [5]. Окисленная форма декстрана показала высокую лечебно-профилактическую активность в экспериментах in vivo, при системном воспалительном процессе, индуцированным внутрибрюшинным введением бактериального эндотоксина (липополисахарид (ЛПС) *Escherichia coli*) [9]. Есть данные подтверждающие эффективность окисленного декстрана при туберкулезе, кандидозе и вирусных заболеваниях. Вместе с тем в настоящее время отсутствует единая концепция относительно механизма фармакологических эффектов окисленного декстрана. Предполагается, что триггерные механизмы активации макрофагов окисленным декстраном опосредованы через β -глюкановые рецепторы, локализованные в цитоплазматической мембране. Однако этот механизм может иметь место на уровне резидентных макрофагов и макрофагов, циркулирующих в крови. На уровне семенников возможен дополнительный механизм активации тестикулярных макрофагов за счет взаимодействия окисленного декстрана с асиалогликопротеиновыми (галактозными) рецепторами макрофагов, так как окисленный декстран наряду с карбонильными группами содержит и карбоксильные группы по типу сиаловых кислот. В качестве модели исследования особенностей поляризации фенотипов макрофагов при хроническом инфекционно-воспалительном процессе нами использованы иммунобиологические данные, полученные у больных туберкулезом, включая лекарственно резистентные формы. Данная модель позволяет наиболее полно, во взаимосвязи с фенотипами макрофагов, оценить основные патофизиологические особенности течения хронического инфекционно-воспалительного процесса с внутриклеточной персистенцией возбудителя заболевания, к которым относится не только *Mycobacterium tuberculosis*, но также и *Candida albicans*, *Ureaplasma species*, *Mycoplasma haemofelis*, а также практически все вирусы.

Цель данной работы обобщить экспериментальные и клинические данные по фармакологическим свойствам окисленного декстрана в рамках концепции поляризации макрофагов для обоснования механизма лечебного действия окисленного декстрана при нарушениях сперматогенеза.

2 **Материалы и методы**

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

I. Клиническое исследование по поляризации макрофагов у больных туберкулезом

В качестве материала для исследования использовали образцы венозной крови 47 больных туберкулезом, 17 из которых имели лекарственно резистентную форму. Для выделения моноцитов из цельной крови с целью трансформации их в макрофаги использовали методику центрифугирования в градиенте фиколла плотностью 1,077 г/см³, с последующим иммуномагнитным разделением CD14+ клеток. Моноциты культивировали в полной питательной среде X-VIVO 10 с гентамицином и феноловым красным с добавлением колониестимулирующего фактора макрофагов (M-CSF) (5 нг/мл) в концентрации 1×10^6 клеток/мл с таким содержанием стимуляторов, таких как интерлейкин (IL) 4 (10 нг/мл) и интерферон (IFN) γ (100 нг/мл). Иммунофенотипирование макрофагов проводили с использованием моноклональных антител к CD80, CD86, HLA-DR, CD163, CD204 и CD206 на проточном цитометре Beckman Coulter CytoFLEX LX. Полученные данные анализировали с помощью программного приложения «CytExpert 2.0». Исходный уровень IL-4 (10 нг/мл; «PeproTech», США) и IFN-γ (100 нг/мл; «PeproTech», США) – стимулировали уровни секреции IL-1β, IL-6, IL -10, TGF-β определяли с помощью иммуноферментного анализа ELISA. Полученные результаты были проанализированы с использованием статистических методов.

II. Клиническое исследование по оценке терапевтической эффективности окисленного декстрана в качестве селективного активатора макрофагов

В исследование включены 52 пациента с жалобами на отсутствие зачатия в паре более 1 года и с латентной фазой хронического простатита, когда отсутствовали общие признаки воспалительного процесса (температурная реакция, в анализах крови: лейкоцитоз, острофазные показатели), но было отмечено увеличение количества лейкоцитов в секрете простаты и эякуляте, ассоциированного с патоспермией. Возраст: 32±2,2 года.

Больные были обследованы по общепринятой схеме, включая информацию по сбору жалоб, данных анамнеза, общего осмотра и физикальных методов: были оценены основные витальные функции органов дыхания, кровообращения, желудочно-кишечного тракта (у всех они были – пределах возрастной нормы), а также – трансректальное пальцевое исследование простаты и пальпаторное исследование мошонки (в рамках объективного урологического обследования).

Пациенты были разделены на две репрезентативные группы: 1-я группа больных получала окисленный декстран ректально по схеме 1 раз в сутки в течение 10 дней, далее 20 дней через день; 2-я группа (группа сравнения) получала аналогичным образом плацебо в форме ректальных свечей, состоящих из масла какао.

Через 2 месяца от начала терапии пациенты сдавали спермограмму.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

Оценку параметров эякулята выполняла международная сеть независимых клинико-диагностических лабораторий в г. Новосибирске «СИТИЛАБ» по рекомендациям ВОЗ 2010 года [7]: были описаны и проанализированы показатели спермограммы, отмеченные динамикой их величин в ходе лечебного процесса: объем эякулята (мл), концентрация сперматозоидов (млн/мл), общее количество сперматозоидов в эякуляте (млн), количество лейкоцитов (млн/мл), выраженность агглютинации сперматозоидов (в усл. ед.).

Исследование было одобрено 31.05.2021 г. (Выписка из протокола заседания ЛЭК ООО «Региональный Медико-Диагностический Центр», №2/2021 от 31.05.2021 г.).

Пациенты были включены в исследование с информированного согласия и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (BMA, Эдинбург, Шотландия, 2000), с учетом изъясняющего примечания п.29, одобренного Генеральной ассамблеей BMA (Вашингтон, 2002).

Методы статистической обработки выбраны в зависимости от типа случайных величин. Для оценки типа распределения признаков использовали критерий Шапиро-Уилка. Результаты анализа непрерывных величин представлены в виде M±m, где M – выборочное среднее и m – стандартная ошибка среднего. Значения качественных признаков представлены в виде наблюдаемых частот и процентов. В случаях нормального распределения, а также равенства дисперсий, для сравнения средних использовали t - критерий Стьюдента. Равенство дисперсий оценивали по F-критерию Фишера. При сравнении связанных выборок использовали парный t-критерий Стьюдента. Критический уровень статистической значимости принимали за 0,05. Сравнение качественных признаков в небольших группах наблюдений проводили, применяя критерий χ^2 Пирсона для четырехпольных таблиц сопряженности. Обработку и графическое представление данных осуществляли с помощью компьютерных программ Statistica 12.0 корпорации StatSoft (США) и Microsoft Office Excel, 2017 г. (США).

III. Экспериментальное исследование по оценке эффективности окисленного декстрана на модели ЛПС индуцированного нарушения сперматогенеза у крыс

Исследование выполнено на половозрелых особях крыс-самцов линии Wistar массой 180 - 200 г. Животные были разделены на 3 группы исследования по 5 животных:

1 группа – крысы-самцы с однократным интраперитонеальным введением 2 мл 0,9% раствора NaCl,

2 группа – крысы-самцы с однократным интраперитонеальным введением ЛПС *E. coli* из расчета 50 мкг/кг массы тела,

3 группа – крысы-самцы с однократным интраперитонеальным введением ЛПС *E. coli* из расчета 50 мкг/кг массы тела и интраперитонеальным введением 2 мл 2% раствора окисленного декстрана.

Животных выводили из эксперимента путем передозировки эфирного наркоза на 3 сутки после введения тестируемых веществ с соблюдением принципов гуманности директив Европейского сообщества (86/609/EEC) и Хельсинкской декларации и в соответствии с требованиями правил проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Объектом гистологического исследования являлись фрагменты семенников крыс линии Wistar, которые фиксировали в нейтральном 10% буферном растворе формалина с последующей пробоподготовкой, изготовлением парафиновых блоков и гистологических стекол со срезами ткани семенников, окрашенными гематоксилином и эозином.

Визуализацию структурных изменений семенников осуществляли методом прямой световой микроскопии при увеличении х200. Морфометрическую оценку гистологических структур осуществляли в поперечных срезах извитых семенных канальцев с наиболее продвинутыми стадиями сперматогенеза в 10 произвольно взятых полях зрения при увеличении х400 с использованием морфометрической сетки на 100 точек площадью $3{,}64 \times 10^4$ мкм^2. При этом осуществляли подсчет численной плотности (Nai) сперматозоидов в просвете канальца, ранних и поздних сперматид, сперматоцитов, сперматогоний, клеток Сертоли, клеток Лейдига, а также численную плотность (Nai) сосудов перитубулярной зоны семенников, объемную плотность (Vv) интерстиция между извитыми семенными канальцами и объемную плотность (Vv) клеточной инфильтрации.

Исследование гистологических образцов осуществляли с помощью цифрового лабораторного светового оптического иммерсионного флуоресцентного поляризационного фазового микроскопа Olympus CX43 (Япония) с программным обеспечением для анализа изображений и фотоархивирования. Фотосъемку препаратов производили цифровой камерой *MOTICAM S6*, (Япония) с последующей обработкой изображения.

Помимо этого, определяли индекс созревания сперматогенных клеток – отношение суммы юных (сперматогонии, сперматоциты) и зрелых форм (сперматиды, сперматозоиды) сперматогенного эпителия.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью программ Statistica и Excel. Оценку достоверности статистических различий между показателями аналогичных параметров осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверными считали отличия при уровне значимости $p \leq 0{,}05$.

3 **Результаты и обсуждения**

В I части клинического исследования было установлено, что тяжесть туберкулезного процесса зависит от поляризации макрофагов. Так при исследовании цитокинового профиля макрофагов продемонстрировано снижение количества клеток, экспрессирующих маркер активации HLA-DR, при трансформации *in vitro* CD14 + -моноцитов крови в макрофаги у больных туберкулезом, что свидетельствует о функциональной фенотипической поляризации макрофагов в направлении M2, а также в направлении M2.

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

нарушение способности клеток к презентации антигена. Эта способность не зависит от условий индукции клеток *in vitro* (M1-активация ИНФ - γ или M2-активация ИЛ-4), клинической формы заболевания или чувствительности к лекарственным средствам. Мы обнаружили, что нестимулированная и индуцированная INF- γ (M1-активация) и IL-4 (M2-активация) *in vitro* секреция IL-10 и провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-6) макрофагами у больных туберкулезом была выше, чем у здоровых доноров. В то же время секреция TGF- β *in vitro* менялась разнонаправленно в зависимости от типа индукции макрофагов; секреция увеличивалась при M1-стимуляции и снижалась при M2-стимуляции клеток. Самый высокий уровень нестимулированной *in vitro* секреции IL-10 и TGF- β наблюдался у больных ДТБ. Кроме того, у больных ЛТБ и лекарственно-чувствительным туберкулезом (ЛЧ-ТБ) при трансформации макрофагов *in vitro* высокая секреция иммуносупрессивных цитокинов IL-10 и TGF- β положительно коррелирует с повышенной экспрессией скэвенджер-рецепторов CD163, CD204, CD206 на клетках, что соответствует регуляторному M2-фенотипу макрофагов. У больных ИТБ с лекарственно-устойчивым туберкулезом при трансформации макрофагов *in vitro* наблюдается высокий уровень экспрессии скэвенджер-рецепторов и молекул костимуляции CD80/CD86 на клетках в связи с гиперсекрецией цитокинов с провоспалительным действием (IL- 1β, IL-6) и противовоспалительную (IL-10, TGF- β) активность свидетельствует о поляризации дифференцировки макрофагов в субпопуляцию клеток с M1- и M2-фенотипами. Таким образом было подтверждено, что поляризационный иммунопатогенез дифференцировки макрофагов *in vitro* в клетки с противовоспалительным (M2) или смешанным (M1/M2) фенотипом при туберкулезе легких обусловлен секрецией макрофагами профильных про- и противовоспалительных цитокинов, активность которых зависит от клинической формы заболевания, а также чувствительности к препарату.

Конечно, прежде всего, данный феномен относится к циркулирующей в системном кровотоке популяции макрофагов. Однако следует учитывать, что цитокиновый профиль сыворотки крови может напрямую влиять на активность резидентных макрофагов в органах и тестикулярных макрофагов в частности и полученные результаты могут объяснить степень нарушения сперматогенеза в зависимости от тяжести заболевания у больных туберкулезом с учетом активности клеточного звена иммунитета.

Во II части клинического исследования было установлено, что окисленная форма декстрана, являющаяся селективным рецептор-опосредованным активатором макрофагов, входящая в состав препарата «Андроэксперт», является весьма эффективным средством восстановления сперматогенеза у больных калькулезным простатитом. Как известно в генезе калькулезного простатита инфекционно-воспалительный процесс является классическим триггерным механизмом воспаления предстательной железы, которое в динамике приводит к нарушению сперматогенеза и фертильности.

Объем эякулята среди больных 1-ой группы увеличился с 2,54 ± 0,15 до

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

3,13 ± 0,18 (мл), что составило 23,23 %; *p<0,05 (рис.1).

Показатель концентрации сперматозоидов вырос с 26,40 ± 4,18 до 41,12 ± 5,37 (млн/мл) - на 55,75%; p<0,05 (рис. 2), что привело к увеличению общего количества сперматозоидов в эякуляте на 88,5%, с 65,47 ± 8,41 до 123,41 ± 12,33 (млн. шт.); *p<0,05 (рис. 3).

Показатель выраженности агглютинации сперматозоидов сократился в 3 раза: с 0,52 ± 0,07 до 0,17 ± 0,03 – на 0,35 усл. ед., что ставило 67,31 %; *p<0,05 (рис. 5).

Положительное влияние свечей «АНДРОЭКСПЕРТ SV1» на сперматогенез у мужчин с хроническим простатитом, ассоциированным с вторичным бесплодием обусловлено, вероятно, не только противовоспалительной активностью окисленного декстрана, но и его опосредованным «гонадотропоподобным действием». Этот эффект связан не со стимуляцией пролиферации сперматогониев, а с улучшением трофики тканей репродуктивных органов. При инфекционно-воспалительных процессах и индуцированном ими хроническом воспалении нарушается нормальная трофика тканей простаты и тестикул и как следствие - изменение эякулята и нарушение сперматогенеза. Ключевыми патогенетическими факторами патоспермии является образование микротромбов в капиллярном русле тестикул, гипоксия и генерация клетками большого количества активных форм кислорода, оказывающих повреждающее действие на клеточные мембраны. В условиях такого микроокружения нормальный сперматогенез невозможен. Окисленный декстран через гликановые рецепторы активирует макрофаги, локализованные в венозно-лимфатическом русле малого таза, включая активацию тестикулярных макрофагов. В результате такой активации тестикулярные макрофаги способны более эффективно фагоцитировать патогенные микроорганизмы, поддерживающие хроническое воспаление, экспрессировать и выделять во внеклеточную среду противовоспалительные цитокины, в том числе и тканевые протеиназы, которые обладают тромболитическим действием и восстанавливают нормальную гемоциркуляцию в капиллярах, устраняя гипоксию и снижая выработку токсичных активных форм кислорода [13]. Кроме того, установлено, что активированные макрофаги яичек выделяют 2,5-гидроксихолестерол, стерол, который может быть преобразован в тестостерон клетками Лейдига [12] и тем самым улучшать их сперматогенную функцию.

Одним из показателей жизнеспособности сперматозоидов является степень их агглютинации, которая зависит от качества семенной жидкости и иммунного статуса самих сперматозоидов. Достоверное снижение агглютинации, наряду с улучшением вышеперечисленных показателей, свидетельствуют о повышении секреторной активности половых желез, улучшении процесса сперматогенеза и повышении мужской фертильности в целом.

Уменьшение количества лейкоцитов в семенной жидкости больных этой же группы к окончанию курса свидетельствует о наличии

противовоспалительной активности окисленного декстрана, которая была показана нами ранее в экспериментах на животных (при моделировании гиперплазии простаты и бронхолегочной патологии) [6, 9] и обусловлена, главным образом, активацией макрофагов.

В экспериментальной части исследования на модели нарушения сперматогенеза, у крыс линии Wistar, индуцированного ЛПС *E. coli* было установлено, что окисленный декстран обладает высокой профилактической активностью, снижая морфологические критерии нарушения сперматогенеза (таблица 1).

Оценивая интегрально гистологическую картину по всем 3 группам животных и представленные в таблице 1 морфометрические данные можно однозначно утверждать, что через 3 суток после интарперитонеального введения ЛПС *E. coli* у крыс наблюдается отчетливая тенденция к снижению всех основных параметров сперматогенеза в сочетании с элементами асептического воспаления в виде отечности интерстиции, полнокровия и клеточной инфильтрации. Данные изменения носят умеренный характер ввиду того, что в эксперименте использовалась низкая доза ЛПС *E. coli*, которая не приводит к фатальным нарушениям сперматогенеза, но позволяет оценить динамику патологического процесса при его коррекции окисленным декстраном. Так у крыс 3 группы, которым сразу же после интраперитонеального введения ЛПС *E. coli* вводили 2% раствор окисленного декстрана в сравнении с животными 2 группы все показатели сперматогенеза были выше. Подобная тенденция наиболее отчетливо проявляется по показателю численной плотности сперматозоидов в просвете канальца, который в 3 группе животных практически приближается к значению показателя в 1 группе и значительно выше, чем у животных 2 группы. При этом следует отметить, что у животных 3 группы, в сравнении с животными 2 группы, морфологические проявления гемоциркуляторных нарушений в виде отека интерстиция выражены в меньшей степени. Однако, показатели объемной плотности клеточной инфильтрации интерстиция между извитыми семенными канальцами и численной плотности сосудов межканальцевой зоны семенников у животных 3 группы, напротив несколько выше, чем у животных 2 группы, что может свидетельствовать об улучшении местного кровотока и активации резидентных тестикулярных макрофагов, в ответ на индуцированное интраперитонеальное введение ЛПС *E. coli*. Подобная динамика может свидетельствовать о том, что окисленный декстран в условиях эксперимента проявляет умеренное противовоспалительное действие, которое ранее было детально изучено на различных моделях in vivo. Надо отметить, что в данной модели in vivo нарушение сперматогенеза носит не прямой, а в большей степени, опосредованный характер, вследствие острой иммунологической реакции на интраперитонеальное введение ЛПС *E. coli* по типу системного асептического воспаления.

4 **Выводы**

Полученные экспериментальные и клинические данные позволяют

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

оценить возможность использования окисленного декстрана в качестве перспективного средства профилактики и коррекции нарушений сперматогенеза, обусловленных действием инфекционных агентов бактериальной и/ или вирусной этиологии. В качестве наиболее вероятного иммунологического механизма эффективности окисленного декстрана при нарушениях сперматогенеза можно рассматривать его способность к рецептор-опосредованной активации макрофагов, которая может сопровождаться их фенотипической поляризацией, определяющей положительную динамику клинического течения хронических инфекционно-воспалительных процессов, ассоциированных с андрологической патологией. Однако, механизмы реализации положительных протективных свойств окисленного декстрана в отношении нарушений сперматогенеза, обусловленного повреждением ткани семенников патологическими агентами инфекционной этиологии, нуждаются в дальнейшем комплексном подробной изучении.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Структурные изменения семенников белых крыс после в/б введения ЛПС E. coli и их профилактика в/б введением 2% раствора окисленного декстрана (M±m).

Table 1. Structural changes in the testes of white rats after intraperitoneal administration of E. coli LPS and their prevention by intraperitoneal administration of a 2% solution of oxidized dextran 40 kDa, (M±m).

Параметры Options		Группы исследования Study Groups		
		1 группа 1 group	2 группа 2 group	3 группа 3 group
Численная плотность, Nai Numerical density, Nai	Извитых семенных канальцев Convoluted seminiferous tubules	30,83 ± 1,37	29,94 ± 1,86	32,98 ± 1,86
	Клеток Сертоли Sertoli cell	20,89 ± 1,26	17,52 ± 1,24$^{\alpha}$	18,87 ± 1,45
	Клеток Лейдига Leydig cells	11,23 ± 1,39	10,75 ± 1,15	13,87 ± 1,47$^{\beta}$
	Сперматоцитов Spermatocytes	38,74 ± 1,26	29,80 ± 1,25$^{\alpha}$	37,29 ± 1,47$^{\beta}$
	Сперматогоний Spermatogonia	48,97 ± 1,35	39,71 ± 1,53	49,34 ± 1,38
	Сперматид Spermatid	33,14 ± 1,52	24,81 ± 1,46$^{\alpha}$	27,79 ± 1,74$^{\alpha}$
	Сперматозоидов в просвете канальца Spermatozoa in the lumen of the tubule	300,87 ± 15,23	239,71 ± 11,35$^{\alpha}$	299,64 ± 13,32$^{\beta}$
	Сосудов перитубулярной зоны семенников Vessels of the peritubular zone of the testes	7,98 ± 0,62	9,28 ± 0,74	11,21 ± 1,23$^{\alpha}$
Объемная плотность, Vv Bulk density, Vv	Межканальцевой интерстициальной ткани Intertubular interstitial tissue	8,25 ± 0,87	12,74 ± 1,24$^{\alpha}$	10,47 ± 1,20$^{\beta}$
	Клеточной инфильтрации интерстиция между извитыми семенными	–	5,64 ± 0,32	7,12 ± 0,46$^{\beta}$

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

	канальцами Cellular infiltration of the interstitium between the convoluted seminiferous tubules			

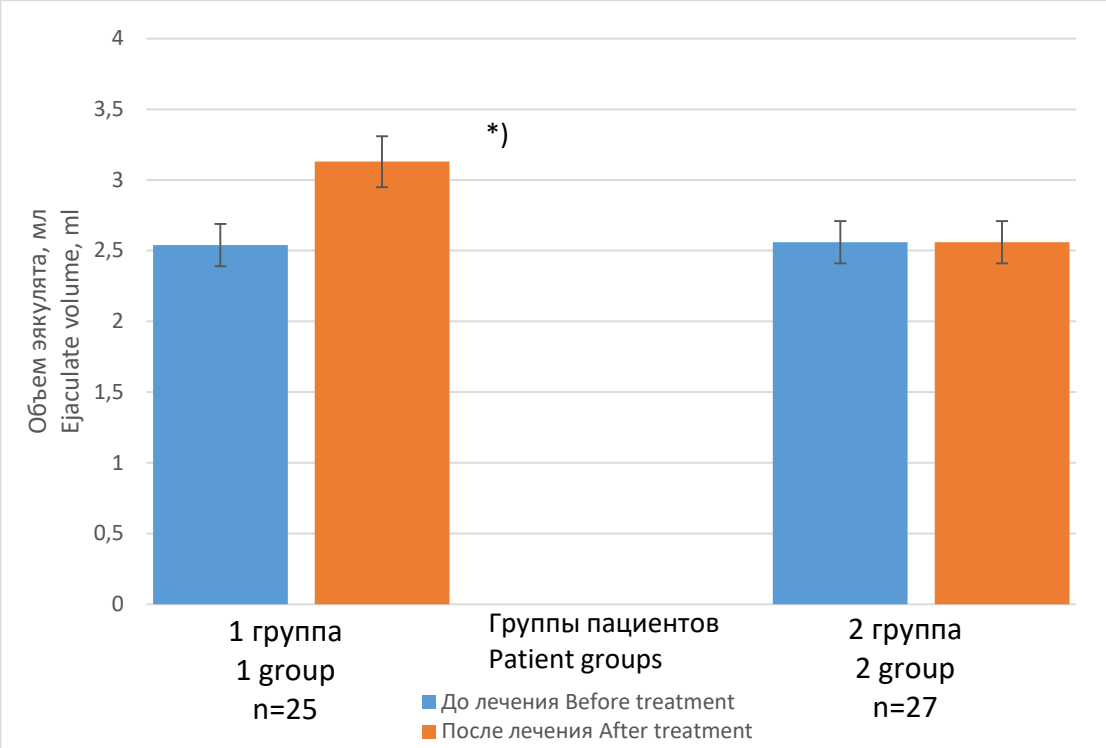
Примечание: α - достоверность отличий величин аналогичных параметров от показателей 1 группы; β - достоверность отличий величин аналогичных параметров между показателями 2 и 3 группами. При $p \leq 0,05$.
Note: α - reliability of differences in the values of similar parameters from the indicators of group 1; β - reliability of differences in the values of similar parameters between indicators of groups 2 and 3. At $p \leq 0.05$.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

РИСУНКИ

Рисунок 1. Динамика показателя объема эякулята (мл) при оценке результатов спермограммы в группах больных к окончанию лечения.
Figure 1. Dynamics of the ejaculate volume index (ml) when evaluating the results of a spermogram in groups of patients at the end of treatment.



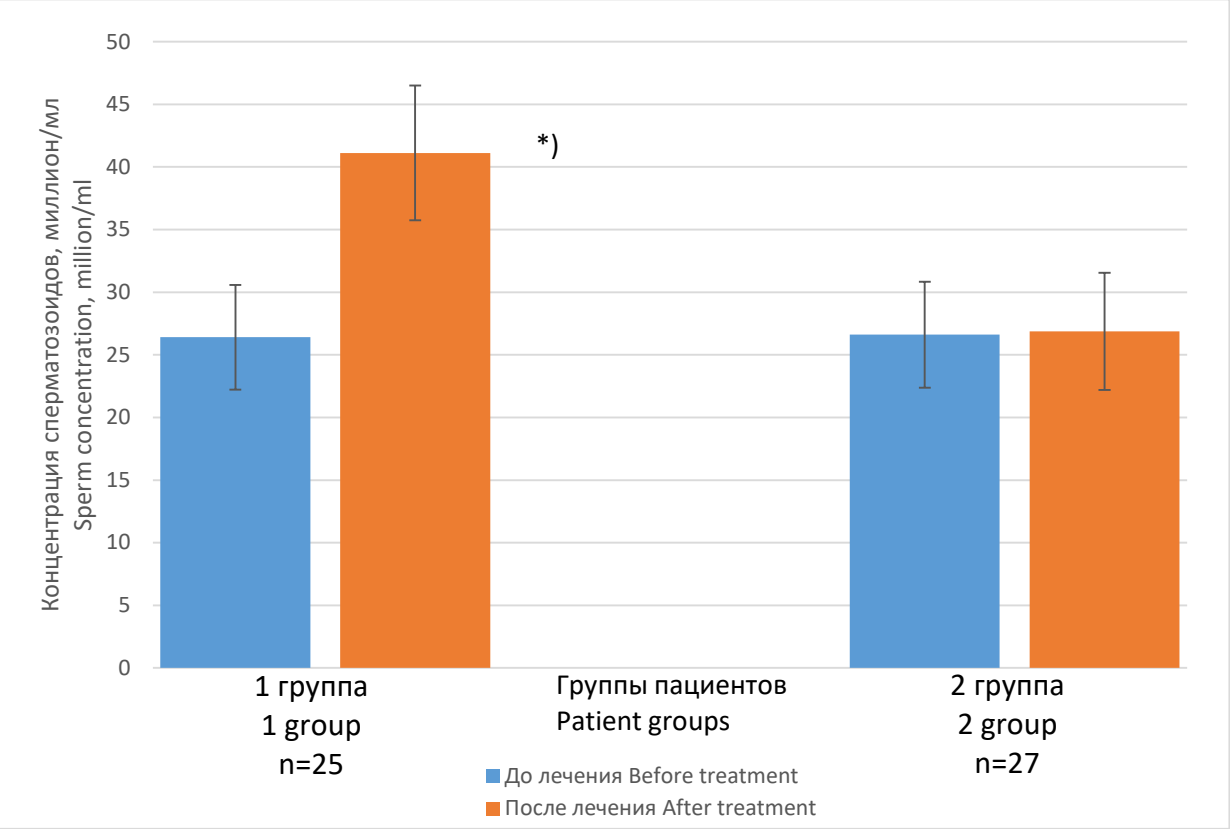
Примечание: 1-я группа больных получала окисленный декстран ректально по схеме 1 раз в сутки в течение 10 дней, далее 20 дней через день; 2-я группа (группа сравнения) получала аналогичным образом плацебо в форме ректальных свечей, состоящих из масла какао.
Note: The 1st group of patients received oxidized dextran rectally according to the scheme 1 time per day for 10 days, then every other day for 20 days; the 2nd group (comparison group) similarly received a placebo in the form of rectal suppositories consisting of cocoa butter.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

Рисунок 2. Динамика показателя концентрации сперматозоидов (млн/мл) при оценке результатов спермограммы в группах больных к окончанию лечения.

Figure 2. Dynamics of the indicator of sperm concentration (million /ml) when evaluating the results of a spermogram in groups of patients at the end of treatment.



Примечание: См. примечание к рисунку 1.

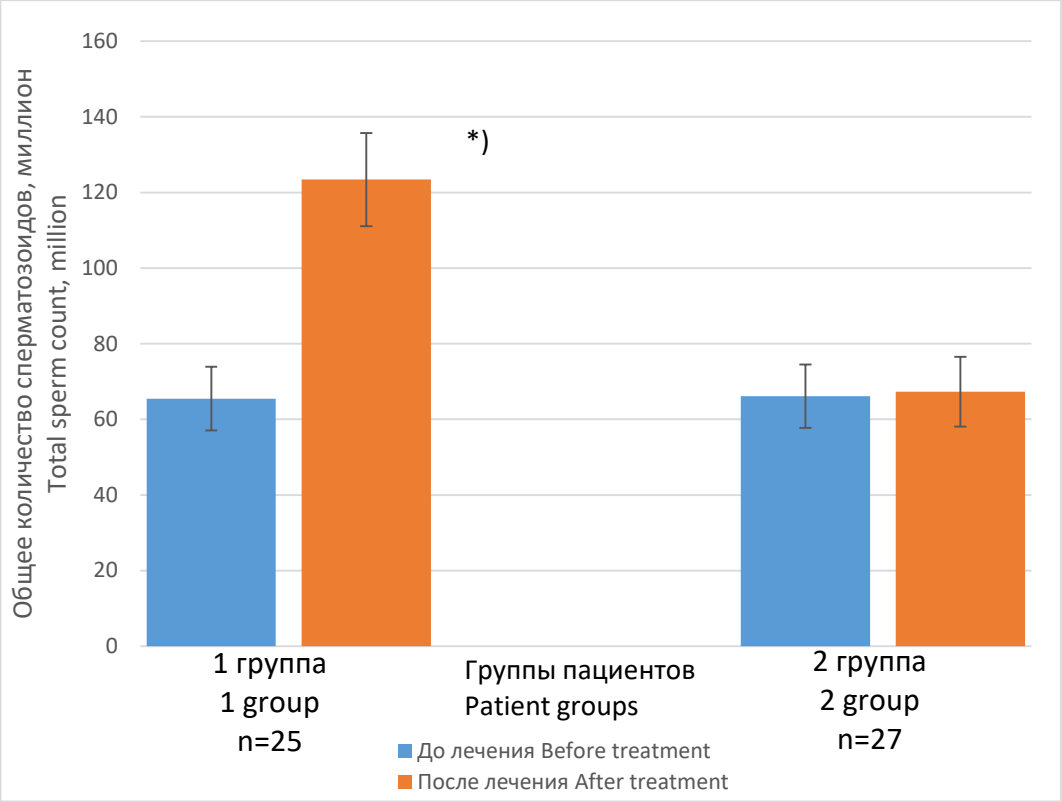
Note: See note to Figure 1.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

Рисунок 3. Динамика показателя общего количества сперматозоидов (млн) при оценке результатов спермограммы в группах больных к окончанию лечения.

Figure 3. Dynamics of the indicator of the total number of spermatozoa (million) when evaluating the results of a spermogram in groups of patients at the end of treatment.



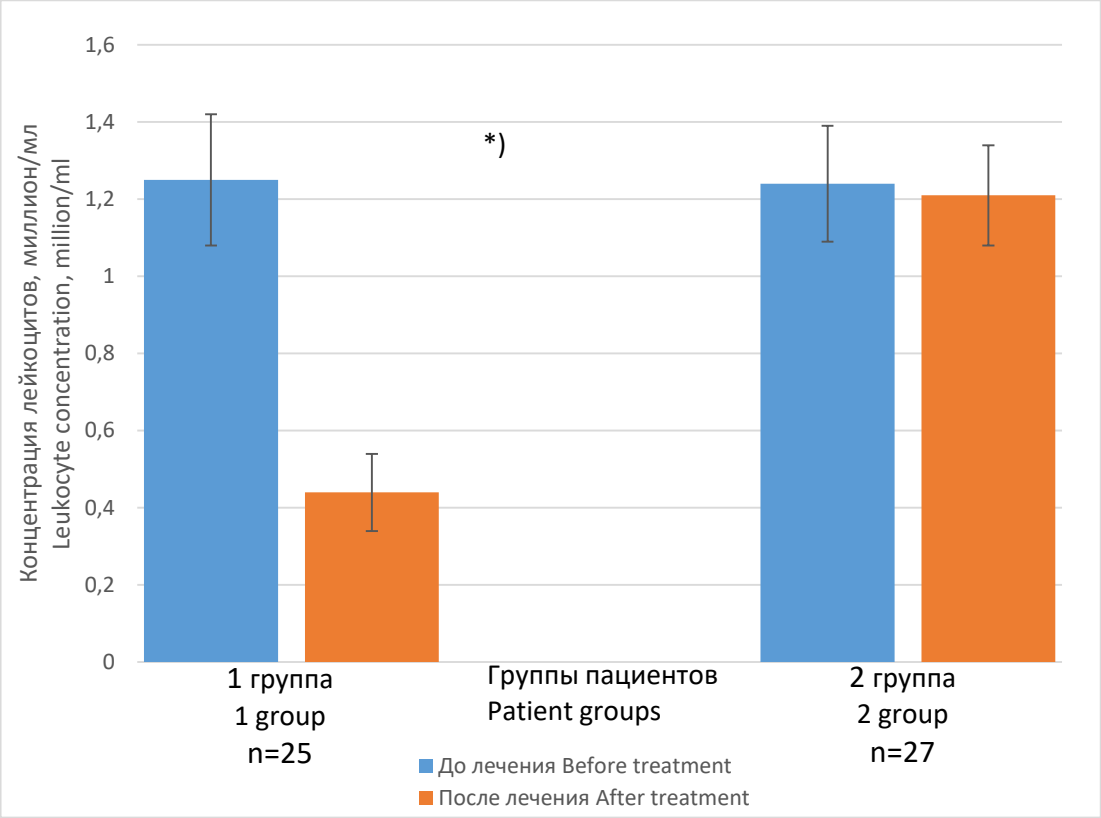
Примечание: См. примечание к рисунку 1.

Note: See note to Figure 1.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

Рисунок 4. Динамика показателя количества лейкоцитов (млн/мл) при оценке результатов спермограммы в группах больных к окончанию лечения.
Примечание: См. примечание к рисунку 1.
Figure 4. Dynamics of the indicator of the number of leukocytes (million /ml) when evaluating the results of a spermogram in groups of patients at the end of treatment.



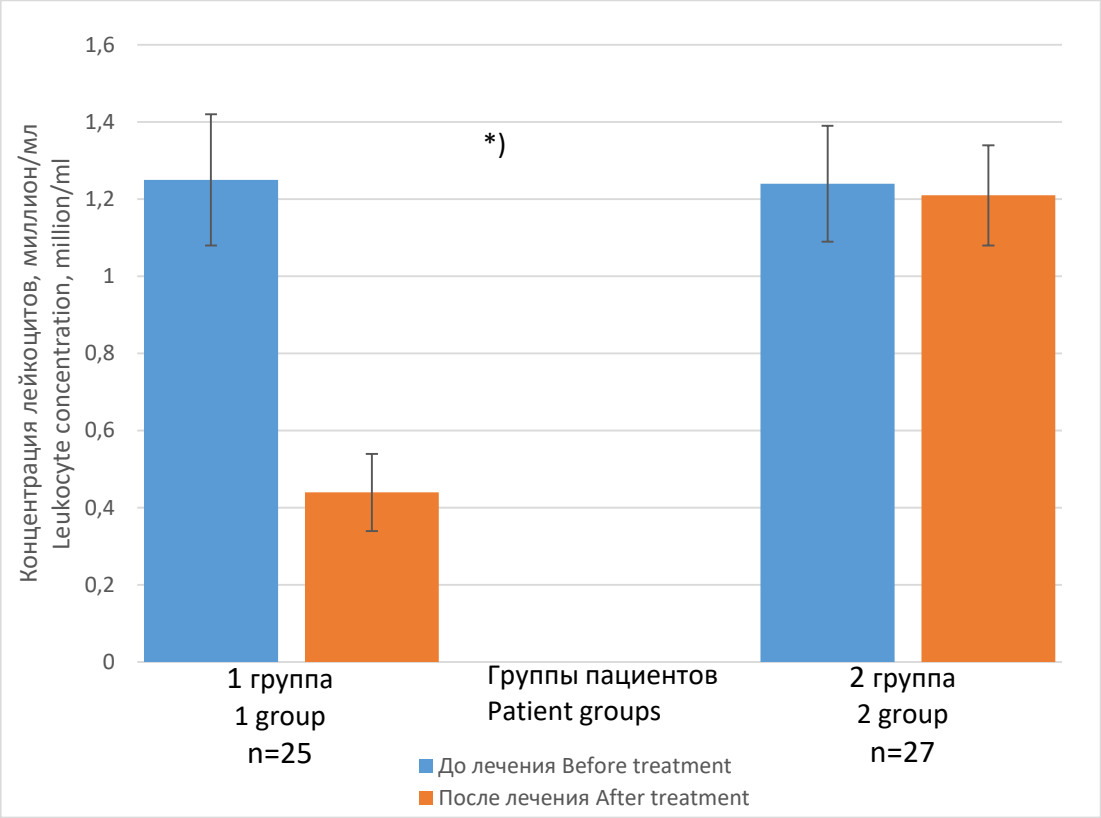
Примечание: См. примечание к рисунку 1.
Note: See note to Figure 1.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

Рисунок 5. Динамика показателя агглютинации семенной жидкости (условных ед.) при оценке результатов спермограммы в группах больных к окончанию лечения.

Figure 5. Dynamics of seminal fluid agglutination index (conditional units) when evaluating spermogram results in groups of patients at the end of treatment.



Примечание: См. примечание к рисунку 1.

Note: See note to Figure 1.

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Чурина Елена Георгиевна – д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, профессор кафедры природных соединений, медицинской и фармацевтической химии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» г. Томск, Россия;
адрес: ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2;
телефон: 8(913)806-07-00;
ORCID: 0000-0002-8509-9921;
e-mail: lena1236@yandex.ru

Churina Elena Georgievna - PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, Professor of the Department of Natural Compounds, Medical and Pharmaceutical Chemistry, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation;
address: Siberian State Medical University, 2 Moskovsky Trakt, Tomsk, 634050 Russian Federation;
telephone: 8(913)806-07-00;
ORCID: 0000-0002-8509-9921;
e-mail: lena1236@yandex.ru

Блок 2. Информация об авторах

Уразова Ольга Ивановна – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ г. Томск, Россия;
ORCID: 0000-0002-9457-8879

Urazova Olga Ivanovna - PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Pathophysiology Division, Siberian State Medical University; Tomsk, Russian Federation;
ORCID: 0000-0002-9457-8879

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

Новикова Елена Геннадьевна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории эндокринологии ФГБУН «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», врач уролог-андролог ООО «Региональный Медико-Диагностический Центр» г. Новосибирск, Россия;
ORCID: 0000-0003-4723-0666
Novikova Elena Gennadyevna – PhD (Medicine), Senior Researcher, Endocrinology Laboratory, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, urologist-andrologist, Regional Medical and Diagnostic Center, Novosibirsk, Russian Federation;
ORCID: 0000-0003-4723-0666

Селятицкая Вера Георгиевна – д. биол. наук, профессор, директор Научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» г. Новосибирск, Россия;
ORCID: 0000-0003-4534-7289
Selyatitskaya Vera Georgievna – PhD, MD (Biology), professor, director of the Research Institute of Experimental and Clinical Medicine of the Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation;
ORCID: 0000-0003-4534-7289

Троицкий Александр Васильевич – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории биосовместимых наночастиц, наноматериалов и средств адресной доставки ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия;
ORCID: 0000-0001-9407-5377
Troitsky Alexander Vasilyevich – PhD (Medicine), leading researcher, head of the laboratory of biocompatible nanoparticles, nanomaterials and targeted delivery systems of the Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation;
ORCID: 0000-0001-9407-5377

Быстрова Татьяна Николаевна – научный сотрудник лаборатории биосовместимых наночастиц, наноматериалов и средств адресной доставки ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», г. Новосибирск, Россия;
ORCID: 0000-0002-2719-6328
Bystrova Tatyana Nikolaevna – researcher, laboratory of biocompatible nanoparticles, nanomaterials and targeted delivery means, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation;
ORCID: 0000-0002-2719-6328

 10.15789/1563-0625-IMO-3137

Блок 3. Метаданные статьи

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОКИСЛЕННОГО ДЕКСТРАНА ПРИ НАРУШЕНИЯХ СПЕРМАТОГЕНЕЗА ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ГЕНЕЗА

IMMUNOLOGICAL MECHANISMS OF THERAPEUTIC EFFICACY OF OXIDIZED DEXTRAN IN SPERMATOGENESIS DISORDERS OF INFECTIOUS AND INFLAMMATORY GENESIS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:
ИММУНОПАТОЛОГИЯ НАРУШЕНИЯ СПЕРМАТОГЕНЕЗА
DEXTRAN AND SPERMATOGENESIS DISORDERS

Ключевые слова: окисленный декстран, нарушения сперматогенеза, воспаление, инфекции, механизм действия, активация макрофагов, фенотипы макрофагов.
Keywords: oxidized dextran, spermatogenesis disorders, inflammation, infections, mechanism of action, macrophage activation, macrophage phenotypes.

Оригинальные статьи.
Количество страниц текста – 9,
Количество таблиц – 1,
Количество рисунков – 5.
09.11.2024

 ISSN 1563-0625 (Print)
ISSN 2313-741X (Online)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет адрес (URL)цитируемой статьи
1	Адамян Л.В., Елагин В.В., Киселева Ю.Ю., Вечорко В.И., Степанян А.А., Дашко А.А., Дорошенко Д.А. Влияние COVID-19 и других вирусных инфекций на мужскую фертильность (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2020. – Т. 26, №6. – С. 77–82.	Adamyan L.V., Elagin V.V., Kiseleva Yu.Yu., Vechorko V.I., Stepanyan A.A., Dashko A.A., Doroshenko D.A. Vliyanie COVID-19 i drugix virusnyh infekcij na muzhskuyu fertil`nost` (obzor literatury). *Problemy` reprodukcii, 2020, Vol. 26, no 6. pp. 77–82.*	DOI: 10.17116/repro20202606177
2	Демяшкин Г. А., Коган Е. А., Ходжаян А. Б., Демура Т. А., Гевандова М. Г., Щекин В. И., Зорин И. А., Болдырев Д. В. Влияние SARS-CoV-2-инфекции на мужскую и женскую репродуктивную систему (метаанализ) // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2020. – Т. 15, №4. – С. 582–586.	Demyashkin G. A., Kogan E. A., Xodzhayan A. B., Demura T. A., Gevandova M. G., Shhekin V. I., Zorin I. A., Boldyrev D. V. Vliyanie SARS-CoV-2-infekcii na muzhskuyu i zhenskuyu reproduktivnuyu sistemu (metaanaliz). *Medicinskij vestnik Severnogo Kavkaza, 2020, Vol. 15, no. 4, pp. 582–586.*	DOI: 10.14300/mnnc.2020.15140
3	Ковалык В.П., Гомберг М.А., Брагина Е.Е., Юрлов К.И., Кущ А.А. Роль герпесвирусов при	Kovaly`k V.P., Gomberg M.A., Bragina E.E., Yurlov K.I., Kushch A.A. Rol` gerpesvirusov pri	DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-3-123-129

	мужском бесплодии // Русский медицинской журнал. Медицинское обозрение. – 2021. – Т 5, №3. – С. 123–129.	muzhskom besplodii. *Russkij medicinskoj zhurnal. Medicinskoe obozrenie. 2021. Vol. 5, no. 3, pp. 123–129.*	
4	Кульчавеня Е.В. Туберкулез предстательной железы и сексуальные проблемы при туберкулезе // Вестник урологии. – 2014. – №3. – С. 20–49.	Kul`chavenya E.V. Tuberkulez predstatel`noj zhelezy i seksual`ny`e problemy pri tuberkuleze. *Vestnik urologii, 2014, no.3, pp. 20–49.*	DOI:10.21886/2308-6424-2014-0-3-20-49
5	Новикова Е.Г., Троицкий А.В., Ука Г.У. Применение ректальных свечей с окисленным декстраном при калькулезном простатите // Урология. – 2021. – №6. – С. 127–129.	Novikova E.G., Troiczkij A.V., Uka G.U. Primenenie rektal`nyh svechej s okislenny`m dekstranom pri kal`kuleznom prostatite. *Urologiya, 2021, no.6, pp. 127–129.*	DOI: 10.18565/urology.2021.6.127-129
6	Новикова Е.Г., Троицкий А.В., Ука Г.У., Селятицкая В.Г. Экспериментальное исследование эффективности ректальных свечей с окисленным декстраном при гиперплазии предстательной железы // Урология. - 2021. – №5. – С. 59–61.	Novikova E.G., Troiczkij A.V., Uka G.U., Selyaticzkaya V.G. Eksperimental`noe issledovanie e`ffektivnosti rektal`nyh svechej s okislennym dekstranom pri giperplazii predstatel`noj zhelezy. *Urologiya, 2021, no.5, pp. 59–61.*	DOI: 10.18565/urology.2021.5.59-61
7	Руководство ВОЗ по исследованию и обработке	Rukovodstvo VOZ po issledovaniyu i obrabotke ehyakulyata cheloveka /	

	эякулята человека / Пер. с англ. Н.П. Макарова; Науч. ред. рус. пер. Л.Ф. Курило. – 5. изд. – Москва: Капитал Принт, 2012. – 291 с.: ил., табл., цв. ил.; ISBN 978-5-905106-09-05	Per. s angl. N.P. Makarova; Nauch. red. rus. per. L.F. Kurilo. – 5. izd. – Moskva: Kapital Print, 2012. – 291 s.: il., tabl., cv. il.; ISBN 978-5-905106-09-05	
8	Сапожкова Ж. Ю., Милованова Г. А., Пацап О. И. Лабораторная диагностика мужского бесплодия. Маркеры и методы. Часть II // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. – 2021. – Т. 1, №2. – С. 65 – 79.	Sapozhkova Zh. Yu., Milovanova G. A., Paczap O. I. Laboratornaya diagnostika muzhskogo besplodiya. Markery i metody. Chast` II. *Laboratornaya i klinicheskaya medicina. Farmaciya, 2021, Vol. 1, no. 2. pp. 65–79.*	DOI: 10.14489/lcmp.2021.02.pp.065-079
9	Троицкий А.В., Черданцева Л.А., Быстрова Т.Н., Новикова Е.Г., Ука Г.У., Гришин О.В., Лядов Е.А. Перспективы применения окисленного декстрана для профилактики вирусных пневмоний и фиброза легких // Медицинский альянс. – 2021. – Т 9, №4. – С. 45–53.	Troiczkij A.V., Cherdanceva L.A., Bystrova T.N., Novikova E.G., Uka G.U., Grishin O.V., Lyadov E.A. Perspektivy primeneniya okislennogo dekstrana dlya profilaktiki virusnyh pnevmonij i fibroza legkih. *Medicinskij al`yans, 2021, Vol. 9, no. 4, pp. 45–53.*	DOI: 10.36422/23076348-2021-9-4-45-53
10	Щербань М.Н. Влияние противотуберкулезной и простатотропной терапии на репродуктивную систему мужчин, страдающих туберкулезом легких	Shcherban` M.N. Vliyanie protivotuberkuleznoj i prostatotropnoj terapii na reproduktivnuyu sistemu muzhchin, stradayushhix tuberkulezom legkix. *Sibirskij*	

	// Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 2. – С. 42–44.	*medicinskij zhurnal, 2008, no. 2, pp. 42–44.*	
11	Burrello N., Salmeri M., Perdichizzi A., Bellanca S., Pettinato G., D'Agata R., Vicari E., Calogero A. E. Candida albicans experimental infection: effects on human sperm motility, mitochondrial membrane potential and apoptosis. Reprod Biomed Online, 2009, no. 4, pp. 496-501.	–	DOI: 10.1016/S1472-6483(10)60125-3.
12	Lukyanenko Y.O., Chen J.J., Hutson J.C. Production of 25-hydroxycholesterol by testicular macrophages and its effects on Leydig cells. Biol Reprod., 2001, no. 3, pp. 790–796.	–	DOI: 10.1095/biolreprod64.3.790.
13	Figueiredo A.F.A., Wnuk N.T., Vieira C.P., Gonçalves M.F.F., Brener M.R.G., Diniz A.B., Antunes M.M., Castro-Oliveira H.M., Menezes G.B., Costa G.M.J. Activation of C-C motif chemokine receptor 2 modulates testicular macrophages number, steroidogenesis, and spermatogenesis progression. Cell Tissue Res., 2021, Vol. 386, no. 1, pp. 173–190.	–	DOI: 10.1007/s00441-021-03504-w.

14	Yu W., Zheng H., Lin W., Tajima A., Zhang Y., Zhang X., Zhang H., Wu J., Han D., Rahman N.A., Korach K.S., Gao G.F., Inoue I., Li X. Estrogen promotes Leydig cell engulfment by macrophages in male infertility. J Clin Invest., 2014, Vol. 124, no. 6, pp. 2709–2721.	–	DOI: 10.1172/JCI59901