

Тератозооспермия и кариопатологические изменения клеток крови у жителей западной Сибири, инфицированных анаплазмами (*Anaplasma phagocytophilum*)

Н.Н. Ильинских^{1,2,3}, Е.Н. Ильинских^{1,2}, М.С. Костромеева^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет МОН РФ, г. Томск,

² ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Томск,

³ ФГБОУ ВО Томский государственный педагогический университет МОН РФ, Томск

Сведения об авторах:

Ильинских Н.Н. – д.биол.н., профессор, профессор кафедры биотехнологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет Министерства образования и науки Российской Федерации», e-mail: nauka-tomsk@yandex.ru.

Ilyinskikh N.N. – DrSc., professor of the Department of Biotechnology Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "National Research Tomsk State University" of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, e-mail: nauka-tomsk@yandex.ru.

Ильинских Е.Н. – д.м.н., доцент, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: ilyinskikh@yandex.ru.

Ilyinskikh E.N. – DrSc, associate professor, professor of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Federal State Budget Educational Educational Institution of Higher Education "Siberian State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: ilyinskikh@yandex.ru.

Костромеева М.С. – аспирант федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: infconf2009@mail.ru.

Kostromeeva M.S. – graduate student of the federal state budgetary educational institution of higher education "Siberian State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: infconf2009@mail.ru

В последние годы спектр клещевых инфекций существенно расширился. Если ранее ученые полагали, что анаплазмоз, вызванный *Anaplasma phagocytophilum*, характерен в основном только для домашних животных, то в настоящее время диагноз анаплазмоза очень часто ставят человеку, постаравшемуся от укуса клеща. Гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) относится к острым лихорадочным заболеваниям с трансмиссивным путем передачи, переносчиками которого являются иксодовые клещи. Возбудителем заболевания является *Anaplasma phagocytophilum*, относящаяся к роду *Anaplasma*, семейства *Anaplasmataceae*. По данным, представленным Е.Н. Ильинских с соавт., первый случай ГАЧ зарегистрирован в Томской области в 2006 году и, начиная с 2013 года, в области отмечен резкий подъем заболеваний, вызванных анаплазмами, при этом

среди невирусных клещевых инфекций, поражающих человека в 72,1% случаев, наблюдается ГАЧ, а в 27,9% – моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ) [1].

При анализе 228 сывороток крови у обратившихся по поводу укуса клеща в серопротективные пункты г. Тюмени в 34,2% случаях были обнаружены анаплазмы (ГАЧ) и в 28,9% эрлихии (МЭЧ) [2]. Исследование, проведенное С.И. Логвиновым на крупном рогатом скоте, свидетельствует о способности некоторых видов анаплазм индуцировать в клетках крови микроядра, возникающие в результате отставания в анафазе митоза фрагментов или целых хромосом [3]. Показано также влияние анаплазм на репродуктивные функции животных, сопровождаемые изменениями структуры семенников и патологией морфологии сперматозоидов [4-5]. Исследований, свидетельствующих о способности анаплазм индуцировать цитогенети-

ческие и кариопатологические aberrации в соматических клетках и патологические изменения сперматозоидов у человека, в доступной литературе авторы не обнаружили.

Настоящая работа посвящена исследованию тератозооспермии и кариопатологических изменений клеток крови у больных и переболевших анаплазмозом, а также у лиц с хроническим бессимптомным носительством анаплазм.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 16 лиц мужского пола больных анаплазмозом, находящихся на лечении в инфекционных отделениях больниц в г. Тюмени и г. Томске. Материалом для кариопатологического анализа послужила кровь из локтевой вены и семенная жидкость пациентов. Больных обследовали во время госпитализации (1-2 день начала заболевания), через 1 и 3 месяца после

выписки из стационара. Кроме того аналогичный анализ однократно проведен у 18 мужчин, у которых методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) при плановом обследовании работников различных учреждений выявлено бессимптомное носительство анаплазм. Возраст обследованных составил, в среднем, $32,5 \pm 4,5$ лет. Все пациенты в течение одного года не подвергались лучевым процедурам и до начала заболевания не получали лекарственную терапию. Большинство из обследованных предъявляли жалобы на отсутствие либидо, резкую утрату полового влечения, что стало одной из причин для изучения у них патологических изменений сперматозоидов в семенной жидкости. В группу контроля были включены 14 здоровых доноров станции переливания крови аналогичной возрастной группы. Предварительно у каждого обследованного было взято информированное согласие на проведение настоящего исследования, которое соответствовало требованиям Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 г. № 266.

Диагноз заболевания устанавливали на основании клинической картины и эпидемиологических данных, темнопольной микроскопии мазков крови с выявлением интрацитоплазматических морул анаплазм в инфицированных нейтрофилах, а также положительных результатов серологических тестов (иммуноферментный анализ). Для выявления антител к ГАЧ (Ig M и Ig G) использовались диагностические тест-системы фирмы «Омникс» (Санкт-Петербург). Для подтверждения диагноза у всех обследованных с помощью ПЦР определялось

наличие праймеров на участок ДНК 16S субъединицы рРНК возбудителя с помощью набора для выделения геномной ДНК из бактерий компании «Синтол» (Москва). Синтез олигонуклеотидов производился на автоматическом ДНК/РНК синтезаторе ASM1000 ("Биоссет", Новосибирск). Очистка проводилась в полиакриламидном геле. Амплификацию выполняли на приборе типа «Терцик-МС2» (Москва) с применением термостабильной Taq-полимеразы ("СибЭнзим", Новосибирск) согласно рекомендациям фирмы-производителя полимеразы. Анализ продуктов ПЦР проводили при помощи электрофореза в 1,5% агарозном геле, содержащем бромистый этидий. Документирование результатов осуществляли на видеосистеме «Vitran» (Биоком).

У всех обследованных пациентов проведены кариопатологические исследования, выявившие следующее: изменения интерфазных ядер в моноцитах крови с регистрацией числа клеток бинуклеаров, с микроядрами и протрузиями, хроматинолизом, фрагментализмом, кариорексисом, кариопикнозом, кариолизисом и вакуолизацией ядра; гиперсегментированность, хроматинолиз и фрагментализм ядра нейтрофилов крови; наличие микроядер в эритроцитах крови; присутствие патологических изменений размера, формы, акросомальной области сперматозоидов, дефекты числа головок, шейки, хвостовой области в мазках семенной жидкости. Для морфологически нормального сперматозоида характерна овальная форма головки, длина которой составляет 5-6 мкм, ширина 2,5-3,5 мкм, акросомальный участок занимает от 40 до 70% площади головки, при этом отсутствуют аномалии шейки, хвоста и срединного отдела. У исследуемых пациентов фиксировались выраженные изменения размеров головки сперматозоида, что подтверждалось путем измерения окуляр-микротром.

Изменения формы, дефекты акросомальной области, удвоение головки сперматозоида, а также аномалии шейки и хвоста оценивались визуально согласно методических указаний ВОЗ и строгих критериев Крюгера [6,7]. Микроскопически был проведен анализ не менее 10 000 моноцитов, нейтрофилов, эритроцитов крови и сперматозоидов. Методические особенности приготовления препаратов и их анализ изложены нами ранее [8]. Кроме того семенная жидкость изучена также на предмет лейкоцитоспермии. Особое внимание при этом обращали на присутствие в сперме инфицированных нейтрофилов.

Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета статистических программ STATISTICA v.10.0 и BIostat (Primer of Biostatistic version 4.03). Все количественные показатели обрабатывали с применением корреляционного анализа по Спирмену и t-критерия Стьюдента для независимых выборок, поскольку тестирование закона распределения при помощи критерия Колмогорова-Смирнова не выявило отличий от нормального. Анализ статистических различий качественных признаков производили с использованием теста χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность [9]. Различия сравниваемых результатов ($X \pm m$, где X – выборочное среднее арифметическое, m – ошибка среднего арифметического) считались достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что в первые дни заболевания анаплазмозом наблюдается значимо повышенный уровень по сравнению с группой контроля практически всех регистрируемых показателей патологий клеток крови и сперматозоидов (табл. 1). ■

Наличие вакуолизации в ядре моноцитов крови указывает на глубокие изменения в клетке и тяжелую степень патологического процесса. Вакуолизация часто сочетается с другими структурными изменениями клетки. Ранняя деструкция ядра моноцита цитологически начинается с образования перинуклеарной вакуоли [10]. В группе контроля число моноцитов с перинуклеарной вакуолью составило $0,71 \pm 0,33\%$, у пациентов основной группы на 1-2 день заболевания – $5,18 \pm 0,73\%$ ($p < 0,01$), на 30 день – $4,31 \pm 0,53\%$ ($p < 0,01$). Апоптотический процесс распада хроматина ядра моноцита может выглядеть как хроматинолиз моноцита, при этом хроматин теряет свою нормальную структуру и рас-

творяется. Ядро окрашивается в светлый цвет, контуры его сохраняются. В группе контроля указанный тип кариопатологических изменений составил $1,82 \pm 0,53\%$, у пациентов основной группы в начале заболевания – $6,12 \pm 0,53\%$ ($p < 0,01$), через месяц после начала заболевания – $4,42 \pm 0,51$ ($p < 0,05$). Фрагментоз моноцитов представляет собой процесс, при котором от ядра отделяются отдельные фрагменты, часто связанные с ядром тонкими нитями базихроматина. Частота выявления подобных моноцитов с фрагментозом в первые дни госпитализации пациентов основной группы составила $5,02 \pm 0,73\%$ при значении $0,73 \pm 0,20\%$ в группе контроля ($p < 0,001$). Повышенный уровень

фрагментоза моноцитов сохранялся у пациентов основной группы и через месяц наблюдения ($p < 0,05$). Кариолизис, представляющий собой растворение части ядра, контуры которого становятся нечеткими, размытыми, составил $0,23 \pm 0,12\%$ в группе контроля и $2,56 \pm 0,54\%$ у пациентов на 1-2 день болезни ($p < 0,001$). Частота выявления моноцитов с кариорексисом или распадом ядра на отдельные не связанные друг с другом части, зачастую являющимся заключительным этапом гибели клетки и образующийся при формировании многогруппового аномального митоза [10], составила в группе контроле $0,12 \pm 0,10\%$; в основной группе – на 1-2 день наблюдения $2,62 \pm 0,61\%$

Таблица 1. Частота выявления клеток крови с патологическими изменениями и показатели тератозооспермии у людей, инфицированных анаплазмами, и здоровых доноров

| Число клеток с патологическими изменениями (в %) | Срок взятия материала (дней после начала заболевания) | | | Бессимптомные носители анаплазм n=18 | Здоровые доноры (контроль) n=14 | |
|--|--|------------------------|----------------------|---|------------------------------------|----------------|
| | 1-2 дня n=16 | 30 дней n=16 | 60 дней n=15 | | | |
| | Показатели кариопатологических изменений в моноцитах крови (в %) | | | | | |
| Микроядра и протрузии | $10,81 \pm 1,21^{***}$ | $8,34 \pm 0,63^*$ | $5,35 \pm 0,61^*$ | $9,38 \pm 0,56^{**}$ | $3,32 \pm 0,21$ | |
| Хроматинолиз | $6,12 \pm 0,53^{**}$ | $4,42 \pm 0,51^*$ | $3,29 \pm 0,73$ | $3,97 \pm 0,59$ | $1,82 \pm 0,53$ | |
| Фрагментоз | $5,02 \pm 0,73^{***}$ | $1,94 \pm 0,33^*$ | $0,75 \pm 0,41$ | $1,78 \pm 0,49$ | $0,73 \pm 0,20$ | |
| Двуядерные клетки | $4,34 \pm 0,64^{**}$ | $1,52 \pm 0,25^*$ | $0,42 \pm 0,22$ | $1,16 \pm 0,28$ | $0,30 \pm 0,22$ | |
| Кариорексис | $2,62 \pm 0,61^{***}$ | $1,33 \pm 0,21^{***}$ | $0,34 \pm 0,10$ | $0,39 \pm 0,18$ | $0,12 \pm 0,10$ | |
| Кариолизис | $2,56 \pm 0,54^{***}$ | $0,54 \pm 0,20$ | $0,49 \pm 0,32$ | $1,67 \pm 0,39$ | $0,23 \pm 0,12$ | |
| Кариопикноз | $0,12 \pm 0,04^{**}$ | $0,11 \pm 0,02$ | $0,18 \pm 0,14$ | $0,16 \pm 0,13$ | $0,62 \pm 0,13$ | |
| Перинуклеарные вакуоли | $5,18 \pm 0,73^{**}$ | $4,31 \pm 0,53^{**}$ | $1,44 \pm 0,83$ | $1,82 \pm 0,34$ | $0,71 \pm 0,33$ | |
| Всего | $37,12 \pm 5,22^{***}$ | $22,73 \pm 3,46^{**}$ | $12,64 \pm 1,91$ | $18,72 \pm 2,45^{**}$ | $7,13 \pm 1,21$ | |
| Показатель кариопатологических изменений в сегментоядерных нейтрофилах крови (в %) | | | | | | |
| Гиперсегментированность ядра | $6,34 \pm 0,48^*$ | $4,56 \pm 0,49^*$ | $0,68 \pm 0,14$ | $0,53 \pm 0,52$ | $0,49 \pm 0,14$ | |
| Хроматинолиз | $5,33 \pm 0,57^*$ | $5,32 \pm 0,66^*$ | $0,79 \pm 0,09$ | $0,81 \pm 0,41$ | $0,78 \pm 0,07$ | |
| Фрагментоз | $4,13 \pm 0,45^*$ | $3,46 \pm 0,24^*$ | $0,58 \pm 0,12$ | $0,51 \pm 0,34$ | $0,59 \pm 0,11$ | |
| Всего | $15,80 \pm 1,9^{***}$ | $13,34 \pm 1,8^{***}$ | $2,05 \pm 0,34$ | $1,85 \pm 0,67$ | $1,86 \pm 0,57$ | |
| Показатель кариопатологических изменений эритроцитов крови (в %) | | | | | | |
| Эритроциты с микроядром | $0,18 \pm 0,06^*$ | $0,15 \pm 0,04^*$ | $0,01 \pm 0,01$ | $0,16 \pm 0,05^*$ | $0,01 \pm 0,01$ | |
| Показатели тератозооспермии (в %) | | | | | | |
| Дефекты головки сперматозоида | Размера | $156,5 \pm 11,2^{***}$ | $68,7 \pm 5,9^{***}$ | $37,1 \pm 5,6$ | $40,5 \pm 7,6$ | $28,6 \pm 3,6$ |
| | Формы | $92,9 \pm 8,9^{***}$ | $33,7 \pm 5,1^{**}$ | $21,6 \pm 4,5$ | $27,6 \pm 3,4$ | $17,2 \pm 2,2$ |
| | Акрсомальной области | $115,6 \pm 9,9^{***}$ | $56,3 \pm 8,1^{***}$ | $20,4 \pm 6,2$ | $31,4 \pm 7,2$ | $21,4 \pm 3,6$ |
| | Число головок | $63,5 \pm 8,2^{***}$ | $33,9 \pm 3,1^{***}$ | $14,3 \pm 2,4$ | $23,3 \pm 2,9$ | $12,6 \pm 2,9$ |
| Дефекты шейки | $79,3 \pm 7,1^{***}$ | $79,6 \pm 6,2^{***}$ | $37,2 \pm 5,1$ | $44,2 \pm 5,6$ | $36,9 \pm 5,7$ | |
| Дефекты хвоста | $39,7 \pm 4,5$ | $41,5 \pm 5,0$ | $41,4 \pm 6,6$ | $48,4 \pm 7,6$ | $32,4 \pm 4,8$ | |
| Всего | $547,5 \pm 18,9^{***}$ | $313,7 \pm 16,8^{***}$ | $172,0 \pm 11,5$ | $215,4 \pm 13,6$ | $149,1 \pm 19,8$ | |

Примечание. Значимые различия показателей у обследованных пациентов по сравнению с группой контроля отмечены звездочками: одной – при $p < 0,05$; двумя – при $p < 0,01$; тремя – при $p < 0,001$.

($p < 0,001$), на 30 день – $1,33 \pm 0,21$ ($p < 0,001$).

У пациентов основной группы в период госпитализации и через 1-3 месяца после выписки из стационара, а также при бессимптомном носительстве анаплазм отмечено снижение числа моноцитов крови с кариопикнозом по сравнению с группой контроля, что может свидетельствовать о процессах деконденсации хроматина в указанных клетках [11]. Обследование пациентов основной группы через 3 месяца после выписки из стационара показало нормализацию большинства анализируемых показателей за исключением частоты встречаемости моноцитов с микроядрами и протрузиями. При бессимптомном носительстве анаплазм значимо, по сравнению с группой контроля, возросло число моноцитов с микроядрами и протрузиями ($p < 0,01$), другие показатели кариопатологических изменений моноцитов были в пределах контрольных значений.

Анализ микроядер и протрузии позволяет сделать вывод о том, что анаплазмы способны вызывать поражения хромосомного аппарата клеток крови. Причем значимое повышение такого рода нарушений наблюдается не только в ядродержащих клетках крови – моноцитах, но и в эритроцитах. Совершенно очевидно, что в этом случае изменения должны возникать на ранних этапах эритропоэза в эритроблестах. Поскольку большинство наблюдаемых микроядер в моноцитах и эритроцитах у основной группы больных имеют небольшие размеры (менее 3 микрон), то логично предположить о том, что этот инфекционный агент опосредовано индуцирует абберации хромосом и образовавшиеся ацентрические фрагменты формируют микроядра. Имеется мнение, что в основе патогенного действия *Anaplasma phagocytophilum* лежит повышение активности катепсина L в нейтрофилах крови, который способствует возникновению однопочечных

разрывов ДНК и образованию микроядер [12,13]. К другому типу цитогенетических нарушений, возникающем при инфицировании микоплазмами, следует отнести существенное возрастание числа двуядерных моноцитов. Анализ этих клеток показал идентичность размеров, структуры хроматина и интенсивности окраски между ядрами в бинуклеаре и это может свидетельствовать в пользу вывода о том, что такие клетки формируются в результате блокады цитокинеза.

Анализ морфологических изменений сперматозоидов в период начала госпитализации показал наличие значительного увеличения в семенной жидкости больных числа сперматозоидов с дефектами головки. Также по сравнению с группой контроля, отмечен рост числа сперматозоидов с изменением размеров и формы головки, с аномалиями акросомальной области, двойной головкой, дефектами шейки, при этом число сперматозоидов с дефектами в области хвоста не отмечено. У бессимптомных носителей анаплазм значимого возрастания числа аномальных сперматозоидов по сравнению с группой контроля не наблюдалось.

В своих исследованиях B.L Swift и соавт. впервые описали патологический процесс, протекающий в половых органах самцов овец, зараженных анаплазмами, относящихся к виду *Anaplasma marginale* [14]. Проводя исследования на животных, искусственно зараженных анаплазмами, авторы установили снижение у них полового возбуждения при спаривании и ухудшение качества спермы. Изучая морфологию спермиев, они отметили основную патологию – отделение головки, причем количество патологических клеток спермы изменялось прямо пропорционально степени тяжести болезни. После проведения гистологических исследований тканей семенников авторы обнаружили дистрофические изменения разной степени тяжести: недостаток зрелых

спермиев, дегенерация сперматид, некротизация сперматид и мультинуклеарный фагоцитоз гигантских клеток, процесса дегенерации: кариопикноз, вакуолизация клеток семенных канальцев. У новорожденных самцов, рожденных от животных, пораженных анаплазмами, развивается пролиферативный интерстициальный орхит с частичным сохранением сперматогенного эпителия.

Как известно, анаплазмоз сопровождается существенными изменениями гуморального и клеточного иммунитета [15]. При противоионном иммунитете значительную роль в устранении цитогенетически измененных клеток играет Т-звено иммунитета и естественные клетки-киллеры [16]. Поражение указанного звена иммунитета сопровождается существенным увеличением числа цитогенетически измененных клеток, поскольку в организме больного ослабевает иммунная система, призванная поддерживать цитогенетический гомеостаз организма. Известно, что анаплазмы в виде морул локализируются в нейтрофилах крови. Наши исследования показали наличие в крови больных значимо повышенного числа нейтрофилов с гиперсегментированным ядром и прогрессирующий процесс хроматинизации и фрагментации ядра клетки. Особенно существенные изменения наблюдались в нейтрофилах при локализации в цитоплазме клетки морул бактерий. Нахождение таких нейтрофилов в сперме позволяет предположить, что высокая гиперферментация этих клеток может вызвать некоторые морфологические изменения сперматозоидов. Кроме того, размножение анаплазм в нейтрофилах приводит к ослаблению иммунных защитных реакций организма, поэтому зачастую анаплазмоз сопровождается оппортунистическими бактериальными, вирусными или грибковыми инфекциями [17]. Поэтому не исключено, что

наблюдаемые нами эффекты могут являться сочетанным действием разнообразных микст инфекций.

Анализ морфологических изменений сперматозоидов свидетельствует о том, что у больных анаплазмозом наблюдается значительное увеличение в семенной жидкости числа сперматозоидов с дефектами головки. Также по сравнению с группой контроля отмечен рост числа сперматозоидов с изменением размеров и формы головки, с аномалиями акросомальной области, двойной головкой, дефектами шейки. При этом сперматозоидов с дефектами в области хвоста выявлено не было. Особенно значительные изменения морфологии сперматозоидов наблюдались при присутствии в сперме нейтрофилов, несущих морулы бактерий. По мнению S.H. Sinclair и соавт. [18] на сегодняшний день единственными прокариотическими нуклеомодулинами, которые непосредственно свя-

зываются с ДНК млекопитающих и влияют на окружающий хроматин клеток хозяина, являются нуклеомодулины бактерии семейства Anaplasmataceae, к которому относится *Anaplasma phagocytophilum*. Авторы предположили, что нуклеомодулины могут действовать широко, влияя на целые геномы соседних неинфицированных клеток, путем ремоделирования хроматина, изменяя его структурную организацию. Вполне возможно, что именно с этим процессом связаны наблюдаемые нами кариопатологические процессы в клетках крови и изменения морфологии сперматозоидов семенной жидкости, поскольку в настоящем исследовании у пациентов с анаплазмозом выявлено наличие инфицированных нейтрофилов в эякуляте. По мнению P. Thonpeau и соавт. значительный уровень цитогенетических аномалий в соматических клетках является одним из маркеров бесплодности мужчин [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цитологический анализ клеток крови (моноциты, нейтрофилы, эритроциты) и сперматозоидов эякулята у пациентов с ГАЧ свидетельствует о значимых кариопатологических изменениях в данных клетках. Наличие среди измененных клеток крови клеток с микроядрами позволяет сделать заключение о существовании при ГАЧ повышенного уровня цитогенетических повреждений хромосомного аппарата анализируемых клеток. Возрастание числа цитогенетических нарушений в виде микроядер зарегистрированы и у бессимптомных носителей анаплазм. Одновременно, при инфицировании анаплазмами у пациентов отмечено возрастание показателей тератозооспермии в виде патологических изменений головки и шейки сперматозоидов как при ГАЧ, так и у бессимптомных носителей анаплазм. ■

БЛАГОДАРНОСТЬ. Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (№ 06-44-700149).

Ключевые слова: гранулоцитарный анаплазмоз человека, тератозооспермия, кариопатология, клетки крови.

Key words: human granulocytotropic anaplasmosis, teratozoospermia, karyopathology, blood cells.

Резюме:

Введение. Анаплазмоз относится к острым лихорадочным заболеваниям, передающимися переносчиками, которыми являются иксодовые клещи. Эксперименты на животных показали способность этого инфекционного агента вызывать цитогенетические нарушения и патологические изменения сперматогенеза.

Целью настоящей работы явилось изучение роли гранулоцитарного анаплазмоза, вызванного *Anaplasma phagocytophilum* у человека, в формировании кариопатологических изменений клеток крови и развитии тератозооспермии у жителей Западной Сибири.

Материалы и методы. Обследованы трехкратно (в начале болезни, через 1 месяц и 3 месяца) 16 больных ГАЧ, а также проведено однократное обследование 18 бессимптомных носителей *A. phagocytophilum* и 14 здоровых доноров крови. Для микроскопического анализа у всех обследуемых были взяты образцы спермы в эякуляте и периферическая кровь.

Результаты. Цитологический анализ клеток крови у больных ГАЧ свидетельствует о значимых кариопатологических измене-

Summary:

Teratozoospermia and karyopathological effects in blood cells in Western Siberians infected with anaplasma (*Anaplasma phagocytophilum*)

N.N. Ilyinskikh, E.N. Ilyinskikh, M.S. Kostromeeva

Introduction. Anaplasmosis is an acute febrile disease transmitted by vectors which are the Ixodidae ticks. Experiments on animals have shown the ability of this infectious agent to cause cytogenetic damage and pathological alternations of spermatogenesis.

Purpose. The aim of this work is to study the role of human granulocytotropic anaplasmosis (HGA) caused by *Anaplasma phagocytophilum* in the karyopathological effects in blood cells and in the teratozoospermia in the inhabitants of Western Siberia.

Material and methods. There were included in the study a group of 16 HGA patients who were examined triply (at the beginning of the disease, a month and 3 months later), as well as 18 asymptomatic *A. phagocytophilum* carriers and 14 healthy blood donors who were examined once. Samples of both the sperm of the ejaculate and the peripheral blood were obtained from each individual for microscopic analysis.

Results. Cytological analysis revealed the significantly high frequen-

ниях в моноцитах, нейтрофилах и эритроцитах крови. Повышенная частота клеток с микроядрами среди других типов цитопатологий позволяет сделать заключение о существовании повышенного уровня цитогенетических нарушений хромосомного аппарата анализируемых клеток у больных ГАЧ. Одновременно, при ГАЧ отмечено наличие тератозооспермии, проявляющееся в виде патологических изменений головки и шейки сперматозоидов семенной жидкости как у больных, так и у бессимптомных носителей анаплазм.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют, что повышенный уровень наблюдаемых изменений клеток крови и сперматозоидов обусловлен влиянием анаплазм *A. phagocytophilum*.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

cies of karyopatological effects in monocytes, neutrophils and erythrocytes of the peripheral blood of HGA patients. The detection higher frequencies of micronuclei among the types of cytopathology can confirm the idea of the increased levels of chromosomal damage in these cells of HGA patients. Moreover, the significantly high frequencies of the teratozoospermia including pathological morphology of the head and the neck of spermatozoa were revealed in both of the patients and the asymptomatic anaplasma carriers.

Conclusion. The data were allowed to conclude that significantly high frequencies of karyopathological effects in the blood cells and the spermatozoa can be induced by *A. phagocytophilum*. These effects were persisted during a month in the group of patients. These results were become indistinguishable from the data of the control only in 3 months after the onset of the disease.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

ЛИТЕРАТУРА

- Ильинских Е.Н., Лукашова Л.В., Лепехин А.В., Замятина Е.В., Портнягина Е.В., Полторацкая Т.Н., и др. Клинико-эпидемиологические аспекты микст- и моно-инфекций, вызванных эрлихиозами. *Известия Самарского научного центра РАН* 2015; 17(5): 377-380.
- Брагина Е.А. Риск заражения людей моноцитарным эрлихиозом и гранулоцитарным анаплазмозом в различных ландшафтных подзонах Тюменской области. *Вестник Тюменского государственного университета* 2010; 3: 111-116.
- Логинов С.И. Микроядерный анализ эритроцитов при различных функциональных состояниях организма крупного рогатого скота. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки* 2003; 3: 73-76.
- McEntee M. Reproductive Pathology of Domestic Mammals. *Elsevier Science* 2012; 2: 408 p.
- Теплова Е.И., Чвалун В.А., Кошкина Н.А., Мишенина Е.В. Хроническое течение анаплазмоза у племенных баранов при экспериментальном заражении. *Труды СНИИЖК* 2004; 2(2): 128-136.
- World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction. 3rd edition. Cambridge: Cambridge University Press; 1992. 124 p.
- Check JH, Adelson HG, Schubert BR, Bollendorf A. Evaluation of sperm morphology using Kruger's strict criteria. *Arch Androl* 1992; 28(1): 15-17.
- Ильинских Н.Н., Ксенц А.С., Ильинских Е.Н., Манских В.Н., Васильев С.А., Ильинских И.Н. Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности. Томск: изд-во ТГПУ; 2011; 234 с.
- Боровиков В.П., Боровиков И.П. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. М.: «Филинь»; 1997; 608 с.
- Ильинских Н.Н., Васильев С.А., Кравцов В.Н. Микроядерный тест в скрининге и мониторинге мутагенов. Saarbrucken (Deutschland): LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH&Co.KG; 2011; 216 с.
- Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию. М.: Академкнига. 2004; 284 с
- Thomas V, Samanta S, Fikrig E. Anaplasma phagocytophilum Increases Cathepsin L Activity, thereby Globally Influencing Neutrophil Function. *Infection and Immunity* 2008; 76(11): 4905-4912. <http://doi:10.1128/IAI.00851-08>
- Goyal S. Involvement of Cathepsin in Mitochondrial Apoptosis by P-Phenylenediamine Under Ambient UV Radiation. *J Hazard Mater* 2015;300: 415-425. <http://doi:10.1016/j.jhazmat.2015.07.032>
- Swift BL, Reeves JD, Thomas GM. Testicular degeneration and libido loss in beef bulls experimentally inoculated with anaplasma marginale. *Theriogenology* 1979; 11(4):277-290.
- Афанасьева М.В. Гранулоцитарный анаплазмоз человека: особенности клинических проявлений в России. *Инфекционные болезни* 2006; 4(2): 24-28.
- Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н. Бочаров Е.Ф. Цитогенетический гомеостаз и иммунитет. Новосибирск: Наука; 1986; 256 с.
- Bakken JS, Dumler JS. Human Granulocytic Anaplasmosis. *Infect Dis Clin North Am* 2015; 29(2): 341-355. <http://doi:10.1016/j.idc.2015.02.007>
- Sinclair SH, Rennoll-Bankert KE, Dumler JS. Effector bottleneck: microbial reprogramming of parasitized host cell transcription by epigenetic remodeling of chromatin structure. *Front Genet* 2014; 14: 126-132.<http://doi:10.3389/fgene.2014.00274>
- Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J, et al. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1, 850, 000) of three French regions. *Hum Reprod* 1991; 6: 811-816.

REFERENCES (1-3, 5, 8-11, 15, 16)

- Il'inskikh E.N., Lukashova L.V., Lepekhin A.V., Zamyatina E.V., Portnyagina E.V., Poltoratskaya T.N., i dr. Kliniko-epidemiologicheskie aspekty mikst- i mono-infektsiy, vyzvannykh erlichiozami. [Clinical and epidemiological aspects of mixed and mono-infections caused by erlichiosis] *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN* 2015; 17(5): 377-380. (In Russian)
- Bragina E.A. Risk zarazheniya lyudey monotsitarnym erlichiozom i granulotsitarnym anaplazmozom v razlichnykh landshaftnykh podzonakh Tyumenskoy oblasti. [The risk of human infection with monocytic erlichiosis and granulocyte anaplasmosis in various landscape subzones of the Tyumen region] *Vestnik Tyumenskogo gosudarstvennogo universiteta* 2010; 3: 111-116. (In Russian)
- Loginov S.I. Mikroyadernyy analiz eritrotsitov pri razlichnykh funktsional'nykh sostoyaniyakh organizma krupnogo rogatogo skota. [Micronuclear analysis of erythrocytes in various functional states of bovine organism] *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki* 2003; 3: 73-76. (In Russian)
- Teplova E.I., Chvalun V. A., Koshkina N. A., Mishenina E. V. Hronicheskoe techenie anaplazmoza u plemennykh baranov pri eksperimentalnom zarazhenii. [Chronic anaplasmosis in pedigree rams during experimental infection] *Trudy SNIIZhK* 2004; 2(2): 128-136. (In Russian)
- Il'inskikh N.N., Ksents A.S., Il'inskikh E.N., Manskikh V.N., Vasil'ev S.A., Il'inskikh I.N. Mikroyadernyy analiz v otsenke tsitogeneticheskoy nestabil'nosti. [Micronuclear analysis in assessing cytogenetic instability] Tomsk: izd-vo TGPU; 2011; 234 s. (In Russian)
- Borovikov V.P., Borovikov I.P. Statisticheskii analiz i obrabotka dannykh v srede Windows. [Statistical analysis and data processing in the Windows environment] M.: "Filin"; 1997; 608 s. (In Russian)
- Il'inskikh N.N., Vasil'ev S.A., Kravtsov V.N. Mikroyadernyy test v skrininge i monitoringe mutagenov. [Micro-nuclear test in screening and monitoring of mutagens] Saarbrucken (Deutschland): LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH&Co.KG; 2011; 216 s. (In Russian)
- Chentsov Yu.S. Vvedenie v kletochnyuyu biologiyu. [Introduction to Cell Biology] M.: Akademkniha. 2004; 284 s (In Russian)
- Afanas'eva M. V. Granulotsitarnyy anaplazmoz cheloveka: osobennosti klinicheskikh proyavleniy v Rossii. [Granulocyte anaplasmosis of a person: features of clinical manifestations in Russia] *Infektsionnye bolezni* 2006; 4(2): 24-28.
- Il'inskikh N.N., Il'inskikh I.N., Bocharov E.F. Tsitogeneticheskii gomeostaz i immunitet. [Cytogenetic homeostasis and immunity] Novosibirsk: Nauka; 1986; 256 s. (In Russian)