

УДК: 616.5-056.3-08-079.4

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПРОСТАТИТОМ В ПРОЦЕССЕ ЛЕЧЕНИЯ

КРУЦКО А.С.

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л.Шупика

В последнее десятилетие значительно обострилась проблема хронического простатита, и эту патологию в 85% случаев диагностируют у мужчин молодого и среднего возраста, которые, как правило, перенесли инфекции, которые передаются половым путем [1, 3, 7, 8].

Данный факт обуславливает необходимость учитывать патогенетические механизмы функционального нарушения иммунной системы у больных хроническим простатитом (ХП), при этом большое внимание придается исследованию кооперативных взаимодействий между клетками иммунной системы, обеспечиваемых секрецией и рецепцией цитокинов.

Целью нашей работы является изучение клеточной кооперации у больных хроническим простатитом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было изучено 120 больных мужчин хроническим простатитом (1 группа) в возрасте от 18 до 50 лет, до и после традиционного лечения; 20 практически здоровых лиц, доноров крови, служили контрольной группой для иммунологических показателей.

Понятие цитокины объединяет в себе большое количество эндогенных биологически активных соединений, включающих интерлейкины (в настоящее время описано около полутора десятков интерлейкинов) интерфероны, колоние-стимулирующие факторы, трансформирующие факторы, факторы, некротизирующие опухоли, и ряд других соединений. В формировании аллергического воспаления принимает участие множество различных медиаторов воспаления, их функции во многом взаимосвязаны, но о течении воспалительного процесса с определенной долей вероятности можно судить по некоторым цитокинам, играющим центральную роль в развитии воспалительной реакции. К их числу относятся интерферон (ИНФ- γ), а также фактор некроза опухолей (ФНО- α) и интерлейкин 1 (ИЛ-1 β) [2, 6, 10, 11].

Известно, что попадание в организм антигена активирует макрофаги и вызывает секрецию ими ряда медиаторов, в том числе и ИЛ-1 β , стимулирующего пролиферацию Т-клеток и являющегося главным медиатором развития местной воспалительной реакции при любом типе воспаления. Кроме того, доказано, что в физиологи-

ческих условиях ИЛ-1 β способен повышать активность Th1-клеток, стимулируя секрецию ими ИНФ- γ . В норме доминирующей секреторной формой у человека является ИЛ-1 β , тогда как практически весь ИЛ-2 остается внутри клетки или в связанном с цитоплазматической мембраной состоянии. При различных патологических процессах имеет место повышение содержания в интерстициальной жидкости ИЛ-1 β .

Таким образом, при патологическом процессе наибольшую информативность может нести обнаружение в биологических средах организма секреторной формы ИЛ-1 β . В связи с этим, нам представилось актуальным провести сопоставление содержания в сыворотке крови ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО- α и ИНФ- γ .

Клетки крови инкубировали в течение 7 часов при 37°C (спонтанный синтез) и стимулировали липополисахаридом (ЛПС) *Escherichia coli* (серотип 055:B5, 10 мкг/мл), "Sigma". Количественное определение уровня синтеза цитокинов проводили через 3 часа от начала инкубации с интервалом в 1 час. Пробирки охлаждались, центрифугировали 10 минут при 800 g, супернатант отбирали и охлаждали. Дальше выделение цитокинов проводили специфическим методом ИФА.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В начале были определены оптимальные параметры времени стимуляции синтеза цитокинов клетками крови, что позволяет завершить первую фазу эксперимента (инкубацию) в течение 6 - 8 часов. Известно, что при стимуляции клеток ЛПС увеличение концентрации ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4 определяется как минимум через 3 часа. Было доказано, что за 6 часов инкубации клетки способны выделять увеличенное количество цитокинов. Синтез цитокинов за данное время не достигает своего максимума, но имеют достоверную разницу ($P < 0,001$) между стимулированным и спонтанным их синтезом (1) [1, 2, 4, 6, 7, 9, 11].

Найденное время инкубации является достаточным для определения уровня синтеза цитокинов, что позволяет сравнивать уровни иммунокомпетентных клеток у больных ХП и здоровых людей до наступления динамического равновесия между секрецией и активацией цитокинов.

Способность клеток крови больных синтезировать ФНО- α при стимуляции клеток ЛПС было значительно выше в сравнении такими же клетками у здоровых людей. Полученные результаты соответствуют данным литературы о способности клеток крови больных ХП синтезировать провоспалительные цитокины в увеличенном объеме *in vitro*, а также об увеличении количества провоспалительных цитокинов в крови больных ХП. Но наибольшее различие между больными ХП и здоровыми донорами выявились при сравнении спонтанной секреции ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-4, которая включает их базальный синтез и синтез, стимулированный ЛПС *E.coli*, который индуцирован минимальным

влиянием, что неизбежно при заборе крови. Если клетки здоровых доноров в покое продуцировали небольшое количество цитокинов, то их синтез клетками крови больных ХП без дополнительной стимуляции был на уровне ЛПС-индуцированного синтеза клетками крови здоровых людей доноров крови [1, 9, 10].

ФНО- α является одним с основных провоспалительных цитокинов, которые отвечают за индукцию клеточного иммунитета, гиперпродукция этого фактора ведет к увеличению синтеза у ряда других цитокинов и факторов, которые участвуют в клеточной активации, смещении баланса Th1/Th2- ответа в сторону Th1-ответа [3, 9, 11].

Таблица 1

Время спонтанного и ЛПС- индуцированного синтеза цитокинов у больных ХП ($M \pm m$)

Показатели (пг/мл)	Время инкубации в часах						
	1	2	3	4	5	6	7
ФНО- α							
Спонт. А	15,1 \pm 2,3	16,8 \pm 4,5	17,8 \pm 5,8	18,7 \pm 4,6	20,7 \pm 6,8	25,1 \pm 10,1	25,3 \pm 5,8
Б	16,7 \pm 5,0	26,5 \pm 4,5	36,9 \pm 6,7	39,8 \pm 7,7	46,7 \pm 7,9	56,1 \pm 12,2	54,2 \pm 11,3
Индук. А	307 \pm 11,0	300 \pm 12,1	320 \pm 12,5	380 \pm 14,6	430 \pm 12,4	501 \pm 11,1	500 \pm 13,4
Б	350 \pm 10,1	360 \pm 9,8	400 \pm 11,2	457 \pm 14,6	530 \pm 15,7	630 \pm 112	625 \pm 100
ИЛ-1 β							
Спонт. А	50,9 \pm 1,3	55,8 \pm 4,6	60,8 \pm 6,7	65,8 \pm 4,5	74,5 \pm 5,5	80,4 \pm 10,2	76,7 \pm 9,7
Б	450 \pm 11,2	460,5 \pm 14	510 \pm 14,8	590 \pm 18,9	610 \pm 15,6	733 \pm 104	734 \pm 100
Индук. А	1345 \pm 10	1450 \pm 8,9	1560 \pm 7,7	1670 \pm 10	1760 \pm 10	1855 \pm 9,6	1850 \pm 9,8
Б	3100 \pm 123	3508 \pm 120	3608 \pm 110	3798 \pm 120	3998 \pm 128	4725 \pm 175	4730 \pm 567
ИЛ-4							
Спонт. А	13,1 \pm 1,2	13,6 \pm 1,4	14,2 \pm 1,3	15,9 \pm 1,5	20,1 \pm 1,2	24,8 \pm 2,5	24,9 \pm 3,5
Б	50,1 \pm 4,8	55,7 \pm 2,9	60,1 \pm 3,1	68,8 \pm 3,4	75,5 \pm 3,6	81,3 \pm 6,7	81,5 \pm 6,5
Индук. А	150,1 \pm 20	160,5 \pm 34	170,5 \pm 24	210 \pm 45	250,4 \pm 67	250,1 \pm 80	247,1 \pm 77
Б	156,1 \pm 30	160,5 \pm 45	178,8 \pm 32	215 \pm 47	268,9 \pm 57	260,1 \pm 79	260,2 \pm 57

Примечание: А - показатели здоровых людей (доноров крови);
Б - показатели больных ХП.

Результаты клинической эффективности лечения больных ХП представлены в таблице 2, где прослеживается закономерность нор-

мализации показателей цитокинов, которые мы изучали в результате традиционного лечения.

Таблица 2

Показатели продукции цитокинов у больных ХП в динамике лечения ($M \pm m$)

Показатели, (пг/мл)	Здоровые люди (n= 20)	Больные ХП (n= 120)	
		до лечения	после лечения
ФНО- α	25 \pm 1,5	562 \pm 55,7*	44,7 \pm 3,7**
ИЛ-1 β	80,40 \pm 10,1	733,6 \pm 104,8*	730,0 \pm 121,6
ИЛ-4	25,15 \pm 1,5	81,3 \pm 13,5*	27,3 \pm 6,3**

Примечание: * - достоверная разница в сравнении больных ХП со здоровыми людьми;
** - достоверная разница до и после лечения больных ХП.

Обращает на себя внимание нормализация ИЛ-4 и увеличение количества ИЛ-1β, что объясняется большим количеством аллергенов, которые поступили в организм человека, что является одним из вариантов защитной функции организма человека и проявлением специфического иммунитета.

Полученные нами результаты свидетельствуют о способности клеток крови секретировать цитокины у больных ХП в период ремиссии и у здоровых людей. Наиболее ярко эти отличия прослеживаются в случаях спонтанной клеточной реактивности, что позволяет использовать данный параметр в качестве одного из диагностических признаков при оценке иммунологической реактивности и эффективности лечения. У больных ХП после проведенного лечения количество ФНО-α и ИЛ-4 значительно уменьшилась, а секреция ИЛ-1β осталась на высоком уровне, очевидно, в ответ на длительное поступление аллергенов [4, 5, 8, 9, 11].

В связи с этим, нам представляется актуальным проведение сравнения содержимого в сыворотке крови ИЛ-1β, ФНО-α и ИНФ-γ и клинической характеристики больных ХП с целью выявления возможных клинико-иммунологических критериев его тяжести патологического процесса. Были обследованы больные ХП при разной степени тяжести пратологического процесса - при средней степени тяжести процесса было обследовано больных 3-ей группы - 35 человек, при легкой степени тяжести – 25 человек, в состоянии ремиссии – 40 больных ХП. Полученные нами данные демонстрируют достоверную зависимость концентрации уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови от тяжести течения ХП. В особенности выраженные нарушения отмечены у пациентов во время средней тяжести течения ХП. Выявленные нарушения достоверно отличались от значений, в группе сравнения (таблица 3.)

Таблица 3

Уровень ФНО-α, ИЛ-1β, ИНФ-γ (M ± m) в сыворотке крови у больных ХП при среднем и легком течении (пг/мл)

Цитокины	Течение ХП средней степени тяжести (n=35)	Легкое течение ХП (n=25)	Ремиссия (n=40)
ФНО-α	117,16 ± 38,45*	86,91 ± 14,61**	86,09 ± 29,23***
ИЛ-1β	108,12 ± 60,23*	48,57 ± 32,49**	37,67 ± 25,38
ИНФ-γ	87,18 ± 17,51*	84,98 ± 18,15**	127,18 ± 94,05

Примечание: достоверности полученных результатов по сравнению тяжести процесса и состояния ремиссии;

*- ХП средней тяжести, ** - легкое течение ХП

Аналогичные изменения отмечены и при анализе уровня ИЛ-1β в сыворотке крови. При средней тяжести ХП отмечено почти десятикратное повышение его сывороточного уровня в сравнении с ремиссией заболевания. Также отмечено трехразовое повышение уровня данного цитокина при ХП легкой степени тяжести. Не найдено вероятных расхождений в содержании ИЛ-1β у пациентов, которые находятся в ремиссии и при легком течении ХП. Отмечен сниженный, в сравнении с группой сравнения, уровень ИНФ-γ при течении ХП любой степени тяжести. Выявленные изменения для средней степени тяжести течения ХП и легком течении ХП были практически не различимы в исследуемых группах, но достоверно не отличались от показателей в группе сравнения [2, 4, 7, 9, 11].

Таким образом, при анализе уровне ряда провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных ХП при различной степени тяжести патологического процесса нами отмечено зна-

чительное возможное повышение уровня ИЛ-1β и ФНО-α при течении средней степени тяжести патологического процесса и умеренное повышение их сывороточного содержания при легкой степени тяжести. Данные литературы свидетельствуют, что провоспалительная реакция за счет ИНФ-γ, активируя макрофагальную составляющую иммунитета, является прямым индуктором синтеза ИЛ-1β, которая обусловлена влиянием специфического антигена, в большей степени, и в меньшей степени - при инфекционном воспалении. ИЛ-1β в физиологических условиях способен усиливать продукцию ИНФ-путем активации Th1- клеток [4, 10].

Таким образом, высокая степень взаимосвязи их сывороточного содержания является физиологической [7, 11]. Исходя из этого, нам представилось интересным провести корреляционное исследование между концентрациями этих цитокинов при различной степени тяжести патологического процесса у больных ХП (таблица 4).

Таблиця 4

Корреляційні зв'язи між досліджуваними цитокинами (r)

Больные ХП	ФНО-α		ИЛ-1β ИНФ-γ***
	ИЛ-1β*	ИНФ-γ**	
Средней степени тяжести (n=35)	-0,15	-0,11	0,59
Легкой степени тяжести (n=25)	0,021	0,123	0,726
Больные ХП в состоянии ремиссии (n=40)	0,191	0,124	0,949

Примечание. Корреляционные связи: * - между ФНО-α и ИЛ-1β; ** - между ФНО-α и ИНФ-γ; *** между ИЛ-1β и ИНФ-γ.

Результатами нашего исследования подтверждается наличие взаимосвязи между концентрациями ИНФ-γ прямой связи между содержанием в сыворотке крови ИНФ-γ и ИЛ-1β. Установлено, что сила этой связи имеет обратную пропорциональную зависимость от тяжести патологического процесса у больных ХП. Так, если в период ремиссии ХП коэффициент корреляции был близкий к единице (r=0,949), то при легком течении ХП, значения коэффициента корреляции составили соответственно 0,726 и 0,59. Возможных коэффициентов корреляции между другими парами показателей содержания цитокинов не получено ни в одной группе пациентов [1, 2,3, 4, 5, 6,10].

Итак, результатами нашего исследования подтверждается наличие взаимосвязи между концентрациями ИНФ-γ и ИЛ-1β в плазме, причем выявлена обратная зависимость между силой описываемой корреляционной связи и тяжестью патологического процесса ХП, что может свидетельствовать в пользу нарушения иммунорегулирующих механизмов контроля атопического воспаления в зависимости от тяжести течения ХП.

Принимая к вниманию полученные нами данные, которые свидетельствуют о снижении концентрации сывороточного ИНФ-γ в период обострения ХП, а также учитывая его значение в патогенезе атопического воспаления, мы считаем, что при тяжелом течении у больных ХП отмечаются возможное нарушение ИЛ-1β опосредованной продукции ИНФ-γ Th1-клетками, которые в числе других факторов, возможно, приводят к недостаточному синтезу данного цитокина клетками-продуцентами. Степень выраженности этих нарушений прямо пропорциональна тяжести течения ХП. Также не исключено, что активация макрофагальной составляющей иммунитета, которая имеет место при обострении ХП, может оказывать содействие повышению продукции макрофагами веществ, которые ингибируют синтез ИНФ-γ [1, 4, 7, 9, 11].

О выраженности воспалительных явлений у больных ХП с определенной долей вероятности свидетельствует повышение в сыворотке крови

типичных провоспалительных цитокинов – ИЛ-1β и ФНО-α, а тогда как сниженное содержание ИНФ-γ может отображать недостаточность факторов, которые ограничивают реализацию атопического воспаления. С этих позиций эффект ИНФ-γ при воспалении следует расценивать как противовоспалительный.

Мы пришли к выводу, что тяжесть патологического процесса у больных ХП характеризуется высоким содержанием ФНО-α и ИЛ-β в сыворотке крови, которая коррелирует с его тяжестью.

Таким образом, после проведенного лечения определены не прямые признаки снижения активности Th-2 - составляющей иммунной системы - нормализация уровня ИЛ-4 в сыворотке крови.

Нормализация уровня сывороточного ФНО-α - одного из факторов, который дестабилизирует базофильные клетки, может рассматриваться как положительный эффект лечения у больных ХП.

При лечении больных ХП на фоне лечения сохраняется высокий уровень спонтанной продукции ИЛ-1β, возможно, в ответ на длительное поступление аллергенов [6, 8, 11].

Для острого периода ХП характерно независимое от степени тяжести приступа снижение концентрации в сыворотке крови ИНФ-γ. Это может быть теоретической предпосылкой для использования препаратов ИНФ-γ в комплексной терапии больных ХП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алергологія. // Під редакцією д.м.н., проф. Кузнецової Л.В. – Київ. - 2008 р. – 365 с.
2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и алергология / Г.Н. Дранник. - Киев: Полиграф Плюс. - 3-е изд. - 2006. - 482 с.
3. Драннік Г.М. Клінічна імунологія та алергологія /К.:Здоров'я.-2006.-с.772-779.
4. Иммунопатология и алергология. Алгоритмы диагностики и лечения / Под общ. ред. Р.М. Хаитова.-М.:ГЭОТАР-МЕД, 2003.-112 с.

5. Казмирчук В.Е., Ковальчук Л.В. // Клінічна імунологія та алергологія.-Вінниця: Нова книга, 2006.- 528 с.
6. Клиническая алергология (под ред. Р.М.Хаитова). М: «Медпресс-информ» - 2002. - 624 с.
7. Клиническая иммунология и алергология. (под редакцией Г. Лолора младшего, Т.Фишера, Д.Адельмана). - М.: Практика. - 2000. - 806 с.
8. Клінічна імунологія та алергологія. - Навч. посібник (за ред. член-кор. АМНУ, д.м.н., проф. О.М.Біловола, д.м.н., проф. П.Г.Кравчуна, д.м.н., проф. В.Д.Бабаджана. д.м.н., проф.Л.В.Кузнецової).- Харків "Гриф" - 2011 - 550 с.
9. Клінічна та лабораторна імунологія. - Національний підручник //За загальною редакцією доктора медичних наук, професора Кузнецової Л.В., доктора медичних наук, професора Бабаджана В.Д., доктора медичних наук, професора Фролова В.М. К.ООО. "Полиграф плюс" - Київ. - 2012 - 922 с.: ил.
10. Кузнецова Л.В. та співав. Лікувальна тактика при невідкладних станах в алергології. - Навчальний посібник для лікарів. - 2008 р. - 37 с.
11. Кузнецова Л.В. Поліноз та його прояви: діагностика, особливості лікування. - Монографія. - Київ. - 2009. - 92 с.

РЕЗЮМЕ

ВМІСТ ЦИТОКІНІВ В СИРОВАТЦІ КРОВІ У ХВОРИХ ХРОНІЧНИМ ПРОСТАТИТОМ В ПРОЦЕСІ ЛІКУВАННЯ

КРУЦЬКО А.С.

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика

Метою нашої роботи було вивчення клітинної кооперації у хворих хронічним простатитом (ХП).

Було вивчено 120 хворих чоловіків хронічним простатитом (1 група) у віці від 18 до 50 років, до та після традиційного лікування; 20 практично здорових осіб, донорів крові, що слугували контрольною групою для імунологічних показників.

Результатами нашого дослідження підтверджується наявність взаємозв'язку між концентраціями

ІНФ- γ та ІЛ-1 β в плазмі, причому виявлено зворотню залежність між силою описаного кореляційного зв'язку и тяжкістю патологічного процесу ХП, що може свідчити на користь порушення імунорегулюючих механізмів контролю atopічного запалення в залежності від тяжкості перебігу ХП.

При лікуванні хворих ХП на фоні лікування зберігається високий рівень спонтанної продукції ІЛ-1 β , можливо, у відповідь на тривале поступлення алергенів.

Для гострого періоду ХП характерно незалежне від ступеня тяжкості приступу зниження концентрації в сироватці крові ІНФ- γ . Це може бути теоретичною передумовою для використання препаратів ІНФ- γ в комплексній терапії хворих ХП.

Ключові слова: хронічний простатит, цитокіни, atopічне запалення, імунологічні показники.

SUMMARY

OF CONTEST OF CYTOKINES IN BLOOD SERUM IN PATIENTS WITH CHRONIC PROSTATIS DURING TREATMENT

KRUTSKO A.S.

National medical academy of postgraduate study by P.L. Shupick

The purpose of our work was studying of cell cooperation in patients with chronic prostatitis (CP).

It has been studying 120 patients with chronic prostatitis (1 group) in age from 18 to 50 years, before and after traditional treatment; 20 almost healthy persons, blood donors, who was as control group for immunological data.

It is confirmed by results of our study a presence of relationship between concentrations INF- γ and IL-1 β in plasma, and found an inverse relationship between the strength of the described correlation and severity of the pathological process of PD, which may indicate for breach of immune-regulating mechanisms of the control of atopіc inflammation, depending on the severity of PD.

During treatment of patients with CP on the background of treatment high level of spontaneous production IL-1 β has been saving, perhaps as response on long term delivery of allergens.

It is characteristically for sharp period of CP the independent for the severity of the attack to reduce the concentration of serum INF- γ . This can be a theoretic prerequisite for using medicines INF- γ in complex therapy of patients CP.

Keywords: chronic prostatitis, cytokines, atopіc inflammation, immunological data.