

УДК: 616.97:616.643-002:615.272:612.017.1

Анфілова М. Р.

**ВЛИЯНИЕ СТАТИНОВ НА МЕСТНУЮ МОЛЕКУЛЯРНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ИММУННОЙ РЕАКЦИИ И СИМПТОМАТИКУ ПРИ ПОСТИНФЕКЦИОННОМ ПЕРСИСТИРУЮЩЕМ УРЕТРИТЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ *S. TRACHOMATIS*, *U. UREALYTICUM* ИЛИ *M. GENITALIUM***

Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова (г. Винница)

m\_anfilova@ukr.net

Работа является фрагментом НИР «Разработка лечебно-профилактических и лечебно-диагностически-реабилитационных программ при тяжелых хронических дерматозах и заболеваниях, передаваемых половым путем с целью повышения качества жизни пациентов» (2013-2017), № 0113U003463.

**Вступление.** В развитии постинфекционных урогенитальных воспалительных синдромов ключевую роль играет дисбаланс молекулярных регулирующих сигналов. В частности, персистирующий уретрит возникает при ослабленной реакции клеточной цитотоксичности в ответ на антигенный раздражитель в сочетании с недостаточной противовоспалительной модуляцией, опосредованной интерлейкином-10 (ИЛ-10). Более того, при этом состоянии даже элиминация антигенных стимулов не приводит к закономерному снижению уровня продукции иммунных мессенджеров, проявляющих хемокинную активность – ИЛ-6, ИЛ-8, ICAM-1, VCAM. В свою очередь, длительно сохраняющиеся повышенные концентрации указанных хемокинов способствуют депонированию и продолжительному пребыванию иммунокомпетентных клеток в тканях уретры [1].

Модуляция активности хемокинных сигналов с целью ограничения рекрутинга лимфоцитов в слизистые оболочки урогенитального тракта и разрешения уже сформированных инфильтратов может стать одним из ведущих направлений в профилактике и лечении пациентов с постинфекционными урогенитальными синдромами. Важным этапом разработки этой терапевтической концепции является поиск потенциальных кандидатов, за счёт которых подобная модуляция может осуществляться. В этой связи, плейотропные (не связанные с влиянием на липидный обмен) эффекты ингибиторов 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А (ГМГ-КоА) редуктазы – статинов, включая противовоспалительные, антипролиферативные, антиоксидантные, иммуномодулирующие, открывают ряд перспектив для модуляции кинетики провоспалительных сигнальных молекул с целью ослабления возможных негативных последствий воспалительной реакции [2,3].

**Цель исследования:** 1) изучить влияние терапии статинами (ловастатином) на симптомы постинфекционного (персистирующего) уретрита у мужчин, индуцированного одним из внутриклеточных возбудителей *S.trachomatis*, *U.urealyticum*,

*M.genitalium*. 2) изучить влияние терапии статинами (ловастатином) на медианные концентрации ICAM-1, VCAM ИЛ-6, ИЛ-8 в уретральных смывах от мужчин с постинфекционным уретритом, индуцированного одним из внутриклеточных возбудителей *S.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*.

**Объект и методы исследования.** В исследовании были включены 44 мужчины с постинфекционным персистирующим уретритом индуцированным, *S.trachomatis*, *U.urealyticum* или *M.genitalium*, предоставивших информированное согласие на участие. До проведения курса терапии ловастатином, а также через 3±1 дня после его завершения у всех пациентов оценивались характер и выраженность уретральных симптомов, и кроме этого определялись уровни ИЛ и молекул межклеточной адгезии в уретральных смывах.

Экспериментальный курс терапии: ловастатин в дозе 40 мг однократно внутрь во время ужина в течение 8-ми недель.

Оценка персистирующих уретральных симптомов выполнялась при помощи, разработанной нами шкалы (табл.).

Таблица.

**Оценка уретральных симптомов**

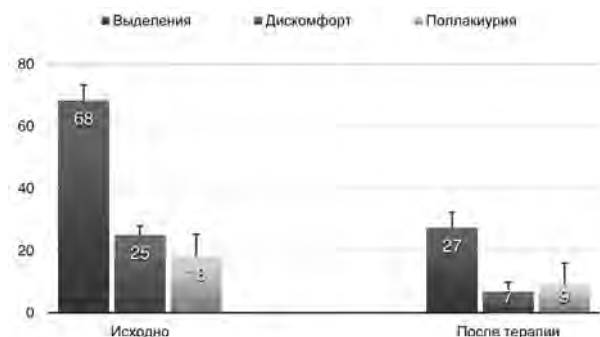
№	Симптом	Интенсивность (баллы)					
		0	1	2	3	4	5
1	Уретральные выделения	0	1	2	3	–	–
2	Дискомфорт (боль/жжение/резь/зуд) в уретре	0	1	2	3	4	5
3	Поллакиурия	0	1	2	3	4	5

Концентрация ИЛ-6, ИЛ-8 в уретральных смывах определялась посредством иммуноферментного анализа с применением стандартных коммерческих тест-систем фирмы IBL-International GmbH (Германия) в соответствии с рекомендациями производителя. Концентрации ICAM-1, VCAM определялась методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием стандартных коммерческих тест-систем фирм Bender MedSystems GmbH (Австрия) и IBL в соответствии с рекомендациями производителей. Уретральные смывы получали путём введения в уретру 1 мл стерильного физиологического раствора комнатной температуры, который после 1 минутной экспозиции собирался в стерильную пробирку

и замораживался при температуре -80С. Смывы собирались утром до первого мочеиспускания.

**Статистический анализ.** Выборочная совокупность составила 44 наблюдения. Уровень значимости не должен был превышать 0,05. Для оценки достоверности различий до и после терапии по частоте симптомов использовали критерий  $\chi^2$ , по медианным значениям интенсивности симптомов и концентраций ИЛ-6, ИЛ-8, ICAM-1, VCAM –  $z_T$ .

**Результаты исследования.** До начала терапии наиболее частым клиническим проявлением постинфекционного персистирующего уретрита был уретральный дискомфорт, а наиболее редким – поллакиурия (рис. 1). В большинстве случаев уретральные симптомы имели умеренную выраженность (рис. 2). Важно, что персистенция симптомов сочеталась с повышенным содержанием в уретральных смывах ИЛ-6, ИЛ-8 а также молекул межклеточной адгезии ICAM-1, VCAM (рис. 3, 4).

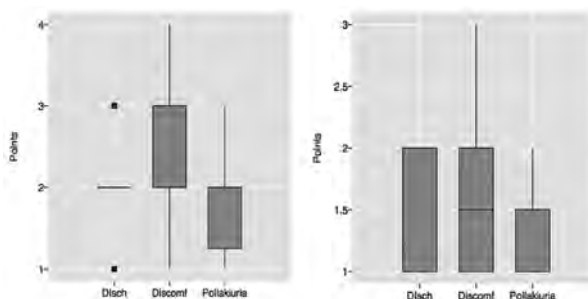


**Рис. 1. Влияние терапии Ловастатином на частоту отдельных симптомов у пациентов с постинфекционным персистирующим уретритом.**

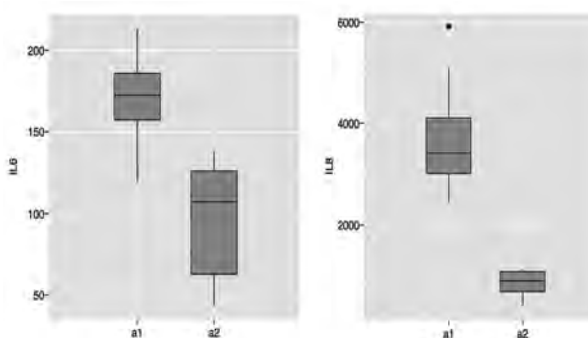
По окончании 8-ми недельного курса терапии ловастатином регистрировалось клинически значимое, однако не всегда статистически достоверное снижение частоты и выраженности уретральных симптомов (рис. 1). Например, доля пациентов с уретральными выделениями и дискомфортом статистически достоверно уменьшилась на 40,6% и 72,8% ( $\chi^2_{расч.} = 14,76$  и  $5,44$  соответственно, превышали  $\chi^2_{крит.} = 3,84$  при  $\nu = 1$ ). В то время как, снижение частоты поллакиурии на 50,5% не достигало статистической достоверности ( $\chi^2_{расч.} = 1,54$ ). Подобная ситуация была характерна и для изменения интенсивности симптомов. Так, медиана интенсивности уретральных выделений достоверно уменьшилась на 1 балл ( $z_{Трасч} = 2,65$ ;  $z_{Ткрит} = 1,96$ ) (рис. 2).

Тогда как, изменения интенсивности дискомфорта и поллакиурии имели случайный характер, на что указывают расчётные значения  $z_{Трасч} = 1,79$  и  $z_{Трасч} = 0,76$  при  $z_{Ткрит} = 1,96$ .

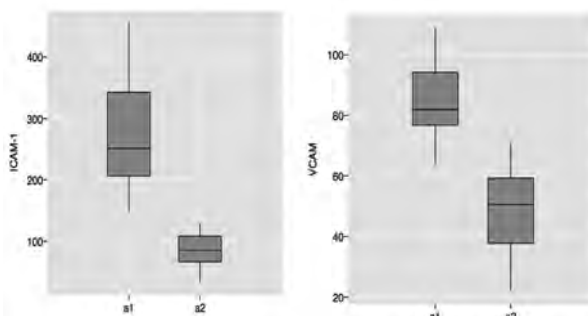
Снижение частоты и выраженности симптомов ассоциировалось со снижением уровней ИЛ-6, ИЛ-8, ICAM-1 и VCAM в смывах из уретры. В частности, через 8 недель после начала терапии Ловастатином медианные концентрации ИЛ-6 и ИЛ-8 уменьшились соответственно на 37,9% ( $z_{Трасч} = 7,74$ ,  $p < 0,05$ ) и 73,9% ( $z_{Трасч} = 8,08$ ,  $p < 0,05$ ). В свою очередь, медианные концентрации ICAM-1 и VCAM снижались соответственно на 66,1% ( $z_{Трасч} = 8,08$ ,  $p < 0,05$ ) и 38,4% ( $z_{Трасч} = 7,97$ ,  $p < 0,05$ ).



**Рис. 2. Влияние терапии Ловастатином на выраженность отдельных симптомов у пациентов с постинфекционным персистирующим уретритом: a1 – исходное распределение, a2 – распределение по окончании курса Ловастатином.**



**Рис. 3. Влияние терапии Ловастатином на распределение пациентов с постинфекционным персистирующим уретритом в зависимости от концентраций ИЛ-6, ИЛ-8 в уретральных смывах: a1 – исходное распределение, a2 – распределение по окончании курса Ловастатином.**



**Рис. 4. Влияние терапии Ловастатином на распределение пациентов с постинфекционным персистирующим уретритом в зависимости от концентраций ICAM-1, VCAM в уретральных смывах: a1 – исходное распределение, a2 – распределение по окончании курса Ловастатином.**

**Обсуждение.** Разработка алгоритма лечения и профилактики постинфекционного персистирующего уретрита у мужчин возможна при условии установления причин и механизмов его возникновения. В этой связи, исследования особенностей регуляции иммунной реакции имеют первостепенное значение. Анализ динамических изменений цитокинового окружения в слизистой уретры в процессе эрадикации патогенов может дать представление не только о функциональных этапах иммунного ответа, но и о его патологической направленности. Кроме того, регуляторная природа цитокинов и адгезивных молекул

делает их идеальным объектом для модуляции воспалительной реакции в уретре.

В предшествующем исследовании мы показали, что усиление продукции регуляторных молекул с хемокинной активностью (ИЛ-6, ИЛ-8, ICAM-1 и VCAM) играет важную роль в патогенезе персистирующего пост-инфекционного уретрита, индуцированного внутриклеточными облигатными патогенами – *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*. В частности, на это указывали два факта: 1) у мужчин с персистенцией симптомов уровни указанных молекул в уретральных смывах были достоверно выше чем у тех, у кого эрадикация возбудителя приводила к устранению симптомов; 2) между выраженностью симптомов и концентрацией ИЛ-6, ИЛ-8, ICAM-1 и VCAM в уретральных смывах была установлена прямая корреляция [1]. В данной работе было получено дополнительное доказательство патогенетической роли усиления синтеза ИЛ-6, ИЛ-8, ICAM-1 и VCAM. Так, снижение частоты и интенсивности уретральных симптомов под действием Ловастатина ассоциировалось с уменьшением концентраций этих молекул.

Также мы впервые продемонстрировали, что 2-х месячный курс Ловастатина клинически значимо и в большинстве случаев статистически достоверно снижает частоту и выраженность симптомов постинфекционного уретрита. Этот клинический эффект становится понятен если принять во внимание, что ИЛ-6, ИЛ-8, ICAM-1 и VCAM обеспечивают трансэндотелиальную миграцию иммуннокомпетентных клеток в очаг воспаления [4,5].

К сожалению, для более детального анализа механизма действия Ловастатина, в частности, его эффектов на лимфоцитарные инфильтраты, а также железы и рецепторный аппарат в слизистой уретры необходимы морфологические (иммуногистохимические исследования), которых мы не проводили. Следует отметить, что выполнение подобного рода исследований сопряжено с этическими проблемами.

Эффекты Ловастатина, обнаруженные в ходе нашего исследования, позволяют рекомендовать его в качестве препарата выбора для устранения персистирующих симптомов у пациентов с пост-инфекционным уретритом, индуцированным внутриклеточными патогенами – *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*. Кроме того, Ловастатин может использоваться в качестве средства профилактики персистенции симптомов у пациентов с исходно ослабленным Th1-типом иммунного ответа.

### Выводы

1. 8-ми недельный курс Ловастатина 40 мг/сутки клинически значимо и статистически достоверно (соответственно на 40,6% и 72,8%) снижает частоту уретральных выделений и дискомфорта у мужчин с постинфекционным персистирующим уретритом, индуцированным *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*.

2. В основе клинического эффекта Ловастатина у мужчин с постинфекционным персистирующим уретритом лежит снижение продукции иммунорегуляторных молекул с хемокинной активностью: устранение уретральной симптоматики ассоциировалось с уменьшением концентраций ИЛ-6, ИЛ-8, ICAM-1, VCAM в уретральных смывах соответственно на 37,9% ( $p<0,05$ ), 73,9% ( $p<0,05$ ), 66,1% ( $p<0,05$ ), 38,4% ( $p<0,05$ ).

3. Установленные эффекты Ловастатина позволяют рекомендовать его для лечения пациентов с постинфекционным уретритом, индуцированным внутриклеточными облигатными патогенами – *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*.

**Перспективы дальнейших исследований.** Необходимы дальнейшие исследования механизмов, объясняющих влияние Ловастатина на продукцию ИЛ-6, ИЛ-8, ICAM-1 и VCAM и связь этих молекул с симптомами постинфекционного уретрита.

## Литература

1. Anfilova M.R. Rol adgezivnoy i tsitokinovoy signalnyh sistem v patogeneze persistiruyushego post eradikatsionnogo uretrita u muzhchin, indutsirovannogo *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium* / M.R. Anfilova // Urologiya. – 2017.
2. Anfilova M.R. Vliyaniye statinov na posteradikatsionnyuyu kinetiku Th1-spetsifichnykh tsitokinov (IL-2, TNF, IFN- $\gamma$ ) i IL-1 $\beta$  u zhenschin s urogenitalnyimi infektsiyami, vyzvannyimi *C.trachomatis*, *M.genitalium*, *U.urealyticum* / M.R. Anfilova // Vestn. probl. biolog. i medits. – 2016. – Т. 1, № 4. – С. 105-110.
3. Calza L. Significant decrease in plasma levels of D-dimer, interleukin-8, and interleukin-12 after a 12-month treatment with ro-suvastatin in HIV-infected patients under antiretroviral therapy / L. Calza, V. Colanelli, E. Magistrelli [et al.] // AIDS Res. Hum. Retroviruses. – 2017. – Vol. 33 (2). – P. 126-132.
4. Gao H. Human IL-6, IL-17, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$  differently regulate the expression of pro-inflammatory related genes, tissue factor, and swine leukocyte antigen class I in porcine aortic endothelial cells / H. Gao, L. Liu, Y. Zhao [et al.] // Xenotransplantation. – 2017. – 24 (2). — doi: 10.1111/xen.12291.
5. Roebuck K.A. Oxidant stress regulation of IL-8 and ICAM-1 gene expression: differential activation and binding of the transcription factors AP-1 and NF-kappaB / K.A. Roebuck // Int. J. Mol. Med. – 1999. – Vol. 4 (3). – P. 223-230.

УДК: 616.97:616.643-002:615.272:612.017.1

### ВПЛИВ СТАТИНІВ НА МІСЦЕВУ МОЛЕКУЛЯРНУ РЕГУЛЯЦІЮ ІМУННОЇ РЕАКЦІЇ І СИМПТОМАТИКУ ПРИ ПОСТ ІНФЕКЦІЙНОМУ ПЕРСИСТУЮЧОМУ УРЕТРИТІ, ІНДУКОВАНОМУ *S. TRACHOMATIS*, *U. UREALYTICUM*, *M. GENITALIUM*

Анфілова М. Р.

**Резюме.** Метою цього дослідження було вивчити у чоловіків вплив терапії статинами (ловастатином) на медіанні концентрації молекул міжклітинної адгезії – ICAM-1, VCAM, інтерлейкінів- ІЛ- 6, ІЛ-8 в уретральних смивах, а також вплив на симптоми пост-інфекційного персистирующего уретриту, індукованого одним з внутрішньоклітинних збудників *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*. За результатами дослідження

можна зробити висновки, що терапія статинами клінічно значимо і статистично достовірно знижує частоту уретральних виділень і дискомфорту, зменшує концентрації ІЛ- 6, ІЛ- 8, ICAM -1, VCAM в уретральних змивах у чоловіків з пост інфекційним персистируючим уретритом, індукованим *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*. Встановлені ефекти Ловастатина дозволяють рекомендувати його для лікування пацієнтів з пост інфекційним уретритом, що індукується внутрішньоклітинними облигатними патогенами – *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*.

**Ключові слова:** пост інфекційний персистируючий уретрит, імунна відповідь, персистенція симптомів, цитокини, ІЛ-6, ІЛ-8, молекули міжклітинної адгезії, ICAM-1, VCAM, *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*.

**УДК:** 616.97:616.643-002:615.272:612.017.1

### **ВЛИЯНИЕ СТАТИНОВ НА МЕСТНУЮ МОЛЕКУЛЯРНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ИММУННОЙ РЕАКЦИИ И СИМПТОМАТИКУ ПРИ ПОСТИНФЕКЦИОННОМ ПЕРСИСТИРУЮЩЕМ УРЕТРИТЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ *C. TRACHOMATIS*, *U. UREALYTICUM* ИЛИ *M. GENITALIUM***

**Анфилова М. Р.**

**Резюме.** Целью данного исследования было изучить у мужчин влияние терапии статинами (ловастатином) на медианные концентрации молекул межклеточной адгезии -ICAM-1, VCAM, интерлейкинов- ИЛ-6, ИЛ-8 в уретральных смывах, а также влияние на симптомы постинфекционного персистирующего уретрита, индуцированного одним из внутриклеточных возбудителей *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*. По результатам исследования можно сделать выводы, что терапия статинами клинически значимо и статистически достоверно снижает частоту уретральных выделений и дискомфорта, уменьшает концентрации ИЛ-6, ИЛ-8, ICAM-1, VCAM в уретральных смывах у мужчин с постинфекционным персистирующим уретритом, индуцированным *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*. Установленные эффекты Ловастатина позволяют рекомендовать его для лечения пациентов с постинфекционным уретритом, индуцированным внутриклеточными облигатными патогенами – *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*.

**Ключевые слова:** постинфекционный персистирующий уретрит, иммунный ответ, персистенция симптомов, цитокины, ИЛ-6, ИЛ-8, молекулы межклеточной адгезии, ICAM-1, VCAM, *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*.

**UDC:** 616.97:616.643-002:615.272:612.017.1

### **THE EFFECT OF STATINS ON LOCAL MOLECULAR REGULATION OF THE IMMUNE RESPONSE AND SYMPTOMATOLOGY IN POST-INFECTION PERSISTENT URETHRITIS INDUCED BY *C. TRACHOMATIS*, *U. UREALYTICUM* OR *M. GENITALIUM***

**Anfilova M. R.**

**Abstract.** The aim of this study was to study the effect of statin therapy (lovastatin) on the median concentrations of intercellular adhesion molecules -ICAM-1, VCAM, interleukin-IL-6, IL-8 in urethral washings, and the effect on post-infection persistent urethritis symptoms in men induced by one from intracellular pathogens *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*.

The study included 44 men with post infection persistent urethritis induced, *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, or *M.genitalium*, who provided informed consent for participation. Before the course of therapy with lovastatin, and 3 ± 1 days after its completion, all patients evaluated the nature and severity of urethral symptoms, and in addition the levels of IL and intercellular adhesion molecules in urethral washings were determined. Experimental therapy: lovastatin 40 mg once orally during dinner for 8 weeks. Evaluation of persistent urethral symptoms was performed with the help of the scale developed by us. The concentration of IL-6, IL-8 in urethral washings was determined by enzyme immunoassay using standard commercial test systems from IBL-International GmbH (Germany) in accordance with the manufacturer's recommendations. Concentrations of ICAM-1, VCAM were determined by ELISA using standard commercial test systems from Bender MedSystems GmbH (Austria) and IBL in accordance with the manufacturer's recommendations. Urethral flushes were obtained by introducing into the urethra 1 ml of sterile physiological solution of room temperature, which after 1 minute exposure was collected in a sterile tube and frozen at -80C. Washings were collected the morning before the first urination.

**Conclusions:**

1. An 8-week course of Lovastatin 40 mg / day is clinically significant and statistically significant (by 40.6% and 72.8%, respectively) reduces the incidence of urethral discharge and discomfort in men with post-infection persistent urethritis induced by *C.trachomatis*, *U. Urealyticum*, *M.genitalium*.

2. The clinical effect of Lovastatin in men with post infection persistent urethritis is based on a decrease in the production of immunoregulatory molecules with chemokine activity: elimination of urethral symptoms was associated with a decrease in the concentrations of IL-6, IL-8, ICAM-1, VCAM in urethral washings by 37.9 % (P <0.05), 73.9% (p <0.05), 66.1% (p <0.05), 38.4% (p <0.05).

3. The established effects of Lovastatin allow us to recommend it for the treatment of patients with post infection urethritis, induced by intracellular obligate pathogens – *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*.

Further research is needed on the mechanisms that explain the effect of Lovastatin on the production of IL-6, IL-8, ICAM-1 and VCAM, and the association of these molecules with the symptoms of post-infection urethritis.

**Keywords:** post-infection persistent urethritis, immune response, symptom persistence, cytokines, IL-6, IL-8, intercellular adhesion molecules, ICAM-1, VCAM, *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.genitalium*.

*Рецензент – проф. Саричев Л. П.*

*Стаття надійшла 02.06.2017 року*