

# Ефекти фактора росту ендотелія судин сім'яної плазми на показники патоспермії у хворих на хронічний простатит, ускладнений екскреторно-токсичним безпліддям

I.I. Горпинченко, Л.І. Добровольська, Т.В. Порошина, Н.А. Калініна, Г.М. Драннік  
ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ

Обобщены результаты исследования ELISA – методом на STAT-FAX 303 Plus концентраций сосудистого эндотелиального фактора роста в семенной плазме 55 пациентов с хроническим абактериальным простатитом, осложненным экскреторно-токсическим бесплодием и на основании корреляционного анализа его эффекты на морфофункциональные характеристики сперматозоидов. Обнаружена прямая корреляционная связь концентрации VEGF в эякуляте и количества активно подвижных сперматозоидов.

**Ключевые слова:** хронический простатит, сосудистый эндотелиальный фактор роста, сперматозоид.

Останнім часом встановлено, що функціонування репродуктивної системи чоловіків знаходиться у взаємозв'язку не тільки з ендокринною, але із імунною системами. Однією зі зв'язуючих ланок під час даної взаємодії можуть бути цитокіни [1]. Продуцентами цитокінів, крім клітин імунної системи, є також тестикулярні клітини Лейдіга, клітини Сертолі, перитубулярні й епітеліальні клітини придатків яєчка, сім'яних пухирців, залоз Купера, передміхурової залози. Так, яєчко має активний дренаж до регіональних лімфатичних вузлів, в яких присутність субпопуляції клітин Т-хелперів 1-го типу (Тх1) виражена більше, ніж Тх2. Відомо, що Тх1 клітини синтезують гама-інтерферон, однією з функцій якого є активація макрофагів. Активовані макрофаги в свою чергу продукують супероксидні ( $O_2^-$ ) і нітроксидні ( $NO^-$ ) радикали і простагландини (PG). PG через зв'язок з різними типами імунокомпетентних клітин, впливають на синтез ними цитокінів.  $PGF_{2\alpha}$  і  $PGE_2$  можуть регулювати експресію інтерлейкіна  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) в клітинах Лейдіга. Поряд із цим, під впливом пролактину посилюється активація макрофагів-резидентів яєчка, що призводить до активного синтезу ними фактора некрозу пухлин –  $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) і, як наслідок, зменшення синтезу тестостерону клітинами Лейдіга [4]. На підставі наведених даних можна стверджувати, що порушення цитокінового профілю сперми може бути відображенням патологічних змін в чоловічій репродуктивній системі, у тому числі і при хронічному простатиті (ХП).

На сьогодні відомо, що бактеріоспермія і лейкоцитоспермія та пов'язані з цим продукція прозапальних цитокінів, у тому числі IL-1b/a, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, G-CSF, C3 компонента комплементу, С-реактивного білка, реактивних радикалів кисню, протеаз тощо, асоційовані з патоспермією та порушенням фертильного потенціалу сперми [1–3]. Проте у хворих на ХП за відсутності бактеріоспермії і лейкоцитоспермії безпліддя часто формується при умовно-нормальних показниках спермограми.

У цьому зв'язку важливими є результати досліджень, згідно з якими доведена важлива роль цитокінів не тільки на інтра- та посттестикулярних етапах сперматогенезу, але і в

забезпеченні регуляції доімплантаційних етапів формування ембріона та його імплантації in vivo. Це може бути пов'язано, щонайменше, з двома причинами. По-перше, сперматозоїди експресують рецептори до низки цитокінів (отже, можуть їх зв'язувати) і, як наслідок, їх функціональний стан може змінюватися [5]. По-друге, в експериментальних роботах було визначено, що не тільки сперматозоїди, а й сім'яна плазма потрапляє через Zervix в Cavum. Отже, реакції, що виникають після контакту цитокінів еякуляту та епітеліальних, стромальних і імунних клітин в ендометрії, може впливати на результати імплантації бластоцисти [6]. Існують фактичні дані, які свідчать, що цитокіни сім'яної плазми беруть участь в організації молекулярних та клітинних змін в ендометрії матки, забезпечуючи максимальну його рецептивність до імплантації ембріона, індують каскад подій, результатом яких є посилення ендогенної експресії і продукції цитокінів (LIF, GM-CSF та інших ростових факторів) з ембріотрофічними властивостями [4]. Позитивна роль факторів сім'яної плазми в доімплантаційному розвитку та імплантації ембріона показана при лікуванні неплідних подружніх пар з використанням допоміжних репродуктивних технологій. Так, однією з причин неможливості імплантації бластоцисти при використанні допоміжних репродуктивних технологій вважається порушення властивостей еякуляту за рівнем цитокінів [4].

Останні дані свідчать про участь фактора росту ендотелю судин (VEGF) в репродуктивній фізіології ссавців. Встановлено, що експресія двох рецепторів (Flk і Flt-1) до VEGF, окрім ендотеліальних клітин, представлена на лейкоцитах та клітинах, що беруть участь в репродуктивній фізіології: клітинах Лейдіга та Сертолі [12]. Визначено прогностичну цінність концентрації VEGF в сім'яній плазмі чоловіків як одного з факторів, що збільшував шанс на запліднення та вагітність у пацієнтів, яким було проведено екстракорпоральне запліднення та трансфер ембріона; суттєве збільшення чи зниження концентрації VEGF в еякуляті пов'язують з незадовільними результатами екстракорпорального запліднення [7]. Біологічне значення ефектів на сперматозоїди VEGF, що продукується клітинами репродуктивного тракту в еякуляті, нез'ясовано.

У зв'язку з цим, метою роботи є визначення у хворих на ХП, ускладнений екскреторно-токсичним непліддям, морфологічних і функціональних характеристик сперматозоїдів залежно від концентрації VEGF в сім'яній плазмі.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проаналізовано результати імунологічного та сперматологічного обстеження 55 чоловіків репродуктивного віку (25–47 років), хворих на ХП, ускладнений екскреторно-токсичним безпліддям.

Безпліддя виникло на фоні хронічного неспецифічного простатиту, який або передував непліддю, або був діагностований при звертанні хворих в клініку з приводу безпліддя. Діагноз був установлений хворим клінічно на підставі анамнезу, огляду та пальпації статевих залоз, а також лабораторно за результатами стандартних сперматологічних, бактеріологічних, ензимологічних та гормональних методів дослідження.

Мікроскопічне дослідження еякуляту проводили за рекомендаціями ВООЗ [8]. Усі маніпуляції з еякулятом проводили з дотриманням техніки безпеки, як з потенційно інфікованим біологічним матеріалом.

Оцінювали показники спермограми, кожен з яких може істотно впливати на фертильні властивості еякуляту: кількість сперматозоїдів в 1 мл та в еякуляті, кількість живих та мертвих сперматозоїдів, рухливість (по 4 критеріях: а – швидкі поступальні рухи; б – повільні, в'ялі поступальні рухи; с – не поступальні рухи (коливальні або маятникові подібні, маневрні); d – нерухливі сперматозоїди); патологічні форми та кількість лейкоцитів; Результати виражали у відсотках. За результатами сперматологічного обстеження критеріями включення пацієнтів в дослідну групу були показники спермограми, що характеризували еякуляти як умовно фертильні.

Концентрацію VEGF в сім'яній плазмі визначали на напівавтоматичному імуоферментному аналізаторі STAT-Fax 303 Plus (США) з використанням тест-систем виробництва «Invitrogen» відповідно до інструкцій виробників. Для отримання сім'яної плазми центрифугували еякулят протягом 10 хв при 1000 об/хв, після чого відбирали супернатант та центрифугували його ще 20 хв при 3000 об/хв з метою видалення клітинних елементів та детриту. Отримані результати досліджень оброблені за допомогою програмного продукту «MedStat» (Україна) з використанням описових статистик та кореляційного аналізу. Перевірку гіпотез про рівність двох середніх проводили за допомогою t-критерію Стьюдента. Достовірною вважали різницю при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами дослідження еякуляту встановлено, що VEGF визначали у всіх пробах сім'яної плазми обстежених хворих, його концентрація (медіана / 25 квартиль: 75 квартиль) дорівнювала 2646/2162: 2756 пг/мл при мінімальному значенні – 2030 пг/мл та максимальному – 2784 пг/мл. Зауважимо, що ці показники значно перевищували показники VEGF в периферійній крові, які складала відповідно 87,5/53,9: 90,8 пг/мл.

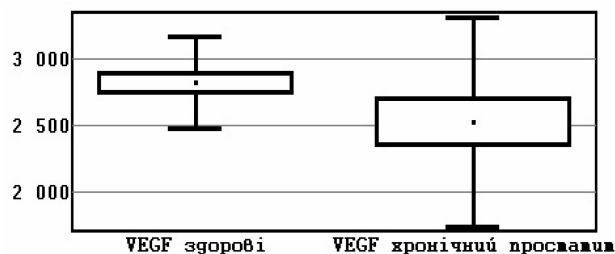
Однак статистично значущої різниці з показниками VEGF в сім'яній плазмі практично здорових чоловіків не отримано ( $p = 0,260$ ), мал. 1.

Аналіз отриманих в результаті дослідження даних на кореляційний зв'язок між концентрацією VEGF в сім'яній плазмі та кількістю лейкоцитів в еякуляті показав її відсутність ( $p > 0,05$ ). Також концентрація VEGF кореляційно не пов'язана з кількістю сперматозоїдів в 1 мл та в загальному об'ємі еякуляту ( $p > 0,05$ ) та кількістю живих / мертвих сперматозоїдів ( $p > 0,05$ ).

При цьому міцний ( $rP = 0,726$ ) кореляційний зв'язок існує між рівнем VEGF та відсотком активно рухливих сперматозоїдів категорії «а» ( $p = 0,027$ ).

Рівняння лінійної регресії має вигляд:

$$\text{Var1} = 20,46 * \text{Var4} - 75,93,$$



Мал. 1. Концентрація VEGF в сім'яній плазмі здорових чоловіків та хворих на хронічний простатит



Мал. 2. Графік регресійного аналізу залежності відсотка активно рухливих сперматозоїдів категорії «а» від концентрації VEGF в сім'яній плазмі

де Var1 – концентрація VEGF в сім'яній плазмі, Var4 – відсоток активно рухливих сперматозоїдів категорії «а»; графічне зображення наведено на мал. 2.

Зв'язок між кількістю нерухомих сперматозоїдів та концентрацією VEGF в сім'яній плазмі відсутній ( $p = 0,152$ ).

Також встановлена відсутність залежності між концентрацією VEGF в еякуляті та відносною кількістю сперматозоїдів нормальної будови ( $p > 0,05$ ); дефектних сперматозоїдів з патологією головки ( $p = 0,165$ ); ший ( $p = 0,543$ ), хвоста ( $p = 0,472$ ). Індекс тератозооспермії також не пов'язаний з концентрацією VEGF в еякуляті хворих на ХП, ускладнений екскреторно-токсичним непліддям.

У літературі є дані, що VEGF належить ключова роль в регуляції фізіологічного та патологічного ангіогенезу. Установлено, що ендогенний (не зв'язаний) VEGF в широкому діапазоні концентрацій визначається у пацієнтів зі злоякісними пухлинами та метастазами, у тому числі і передміхурової залози, діабетичними ренопатіями, серцево-судинними захворюваннями [9]. Установлено, що втрата навіть однієї алелі VEGF призводить до ембріональної смерті експериментальних тварин із-за патології формування судинної системи [10]. Біологічне значення ефектів VEGF, що в значній кількості продукується клітинами репродуктивного тракту у чоловіків, не з'ясовано. Показано, що Flk- і Flt1-рецептори до VEGF присутні на сперматоцитах [11] та зрілих сперматозоїдах у тварин [7], отже, ефекти VEGF на сперматозоїди еякуляту можуть бути прямими. З урахуванням цих даних літератури та за результатами проведеного дослідження вважаємо, що зниження потенціалу чоловічої фертильності у хворих на ХП певною мірою пов'язано із впливом VEGF на функціональний стан сперматозоїдів. Одним з ефектів VEGF, що присутній в еякуляті, є посилення рухливості сперматозоїдів; зниження концентрації VEGF в еякуляті призводить до зниження відсотка сперматозоїдів зі швидким поступальним рухом.

**Эффекты фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке плазмы на показатели патоспермии у больных на хронический простатит, усложненный экскреторно-токсичным бесплодием**

**I.I. Gorpinchenko, L.I. Dobrovolska, T.V. Poroshina, N.A. Kalinina, G.M. Drannik**

Узагальнені результати дослідження ELISA - методом STAT-FAX 303 Plus концентрацій судинного ендотеліального фактора росту в сироватці плазми 55 пацієнтів із хронічним абактеріальним простатитом, ускладненим екскреторно-токсичним бесплодієм, і на основі кореляційного аналізу його ефекти на морфологічні характеристики сперматозоїдів. Виявлено прямий кореляційний зв'язок концентрації VEGF в еякуляті і кількості активно рухливих сперматозоїдів.

**Ключові слова:** хронічний простатит, судинний ендотеліальний фактор росту, сперматозоїд.

**Effects of vascular endothelial growth factor of morphological abnormalities spermatozooids from infertile patients with chronic abacterial prostatitis**

**I.I. Gorpinchenko, L.I. Dobrovolska, T.V. Poroshina, N.A. Kalinina, G.M. Drannik**

55 infertile patients with chronic abacterial prostatitis were assessed for free VEGF in seminal plasma by ELISAs using STAT-FAX 303 Plus. Spearman rank correlation analysis was performed to assess some interrelations between morphological abnormalities of spermatozooids and VEGF. In patients with CAP there is direct correlation between VEGF and the relative number of actively motile with progressive movement of sperm ( $rK = rP = 0,726; p=0,027$ ).

**Key words:** chronic prostatitis, vascular endothelial growth factor, spermatozoid.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Роль цитокинов в регуляції сперматогенеза: сучасний погляд на проблему / Б.И. Айзикович, И.В. Айзикович, О.Ю. Верба [и др.] // Иммунология. – 2008. – № 3. – С. 192–193.  
2. Разумов С.В. Роль цитокинов в диагностике хронического простатита / С.В. Разумов, А.А. Медведев, Н.В. Чирун [и др.] // Урология. – 2003. – № 6. – С. 25–27.

3. Пушкарь Д.Ю. Хронический простатит: что нас тревожит? / Д.Ю. Пушкарь, А.С. Сегал // Андрология и генитальная хирургия. – 2008. – № 1. – С. 43–46.  
4. Хонина Н.А. Регуляторные факторы и цитокины в сыворотке и фолликулярной жидкости у женщин при контролируемой овариальной гиперстимуляции / Н.А. Хонина, И.В. Айзикович, Е.Я. Шевела, М.А. Тихонова // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 38–44.  
5. Gutsche S. Transforming growth factor-1 in seminal plasma might facilitate opening the window of implantation / S. Gutsche, M. von Wolff, T. Strowitzki, C.J. Thaler // Hum. Reprod. – 2002. – Vol. 17. – P. 1–6.  
6. Kunz G. The dynamics of rapid sperm transport through the female genital tract: evidence from vaginal sonography of uterine peristalsis and hysterosalpingoscintigraphy / G. Kunz, D. Beil, D. Deininger [et al.] // Hum. Reprod. – 1996. – Vol. 11 (3). – P. 627–632.  
7. Obermair A. Vascular endothelial growth factor and its receptors in male fertility / A. Obermair, A. Obruca, M. Pohl [et al.] // Fertil. Steril. – 1999. – Vol. 72. – P. 269–275.  
8. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью / Пер. с англ.; под ред. Л.Ф. Курило. – М.: Издательство «Мед Пресс», 2001. – 144 с.  
9. Joseph B. Androgens regulate vascular endothelial growth factor content in normal and malignant prostatic tissue / B. Joseph // Prostate. – 2001. – Vol. 49. – P. 293–305.  
10. Ferrara A. The finding that the loss of even a single VEGF allele results in embryonic lethality points to an irreplaceable role played by this factor in the development and differentiation of the vascular system / A. Ferrara [et al.] // Endocr. Rev. – 1997. – Vol. 18. – P. 4–25.  
11. Marti H.H. Systemic hypoxia changes the organ-specific distribution of vascular endothelial growth factor and its receptors / H.H. Marti, W. Risau // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – Vol. 95. – P. 15809–15814.  
12. Ergun S. Vascular endothelial growth factor and its receptors in normal human testicular tissue / S. Ergun, N. Kilic, W. Fiedler [et al.] // Mol. Cell. Endocrinol. – 1997. – Vol. 131. – P. 9–20.