

Как видно из данных рис. 2, 3, у пациентов, получавших только медикаментозную терапию, нормализации кровотока при ишемической и смешанной формах нарушения васкуляризации практически не отмечалось. Ишемический тип васкуляризации был выявлен у 8 пациентов (12%) до лечения и у 7 пациентов (10,3%) после лечения; смешанный тип васкуляризации до начала лечения был выявлен у 3 больных (4,4%) и у 4 (6%) после лечения. При этом медикаментозная терапия была достаточно эффективной при гиперемическом типе сосудистой реакции 12 мужчин (17,5%) до лечения и 5 (7,4%) – после. В группе В результаты комплексной терапии выглядели гораздо более впечатляюще. Количество больных при гиперемическом, ишемическом и смешанном типе сосудистых нарушений снижалось с 12 (17,5%), 7 (10%), 5 (7%) пациентов до 3 (4,4%), 2 (2,9%), 1 (1,5%) соответственно.

При сравнении данных по системе IPSS и динамики васкуляризации очевидна корреляция между оценкой качества

жизни пациентов и результатами ультразвуковой ангиографии в одноименных группах.

ВЫВОДЫ

1. При сравнении результатов комплексного (в сочетании с пелоидотерапией) и медикаментозного лечения отмечается высокая степень корреляции между оценкой качества жизни пациентов по системе IPSS и результатов ультразвукового исследования.

2. Применение пелоидотерапии в сочетании с традиционным медикаментозным лечением повышает эффективность лечения в 2,6 раза.

3. Сочетанное воздействие пелоидотерапии и аллопатического лечения эффективно при лечении нарушений всех видов васкуляризации хронического простатита.

4. Медикаментозное лечение особенно эффективно для купирования гиперемических форм хронических простатитов. В отношении ишемических и смешанных форм васкуляризации изолированная медикаментозная терапия не дает ожидаемых результатов.

УДК 616.65-002.2-008.8-078.7

Ефекти цитокінів еякуляту на показники патоспермії у хворих на хронічний абактеріальний простатит, ускладнений ексреторно-токсичним непліддям

Г.М. Драннік, І.І. Горпинченко, Т.В. Порошина, К.Р. Нуріманов, В.С. Савченко, Л.І. Добровольська, І.І. Тарасова

ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ

Узагальнені результати дослідження ELISA-методом на STAT-FAX 303 Plus концентрацій цитокінів у сім'яних плазмах 136 хворих на хронічний абактеріальний простатит. Установлено, що порушення функціонального стану клітин, які продукують в еякуляті цитокіни, є складовою формування ексреторно-токсичного непліддя. Показники патоспермії корелюють з концентрацією TGF- β , IL-17 і VEGF в еякуляті.

Ключові слова: хронічний простатит, імунітет, цитокіни, фертильність.

Поширеність хронічного простатиту у всьому світі є високою та має тенденцію до збільшення. Відсутність комплексних досліджень з питань етіологічного спектра, топічної діагностики, лікування та профілактики їх рецидивів визначають доцільність виконання науково-дослідних робіт з урахуванням новітніх даних сучасної імунології.

Центральне місце у регуляції запальної і імунної реактивності на локальному і системному рівнях посідає цитокинова мережа. За допомогою цитокінів регулюється характер, глибина та тривалість запалення як складової імунологічних реакцій, вони є медіаторами всіх трьох типів тканинних процесів при запаленні – ексудації, альтерації та проліферації, деякі з цитокінів при хронічному запаленні можуть виступати основою формування фіброзу та склерозу тканин [5]. Важливо, що продукція цитокінів при запаленні забезпечується

не тільки «запальними» макрофагами, Т-хелперами (Th), Т-регуляторними (Treg) клітинами, але й епітеліальними, фібробластними клітинами, ендотеліоцитами 2-го типу, насамперед, посткапілярних венул ушкодженого органа. Так, встановлено, що епітеліальні клітини передміхурової залози (ПЗ) експресують Toll-like-рецептори (TLR) [8] та рецептори цитокінів [2]. Відомо, що після взаємодії TLR з конкретними групами асоційованих з патогенами молекулярних патернів (PAMP) відбувається передача в клітину активаційного сигналу, результатом чого є, насамперед, синтез прозапальних цитокінів [4]. Ураховуючи, що в епітеліальних клітинах ПЗ виявлена mRNA інтерлейкінів (IL)-1, -4, -6, -8, -13, фактора некрозу пухлин-альфа (TNF- α), трансформіночного фактора росту-бета (TGF- β); в стромальних клітинах – mRNA IL-1, -6, -8, -13, TNF- α , TGF- β [11], можливою є участь простатичних клітин в каскадних цитокін-опосередкованих реакціях та процесах, що супроводжують хронічний перебіг захворювання та порушення репродуктивної компоненти статевої функції при мінімальній кількості імунокомпетентних клітин in situ ПЗ. Продукцентами цитокінів є також тестікулярні клітини Лейдига, клітини Сертолі, перитубулярні і епітеліальні клітини придатків яєчка, сім'яних пухирців, залоз Купера [2]. Біологічне значення ефектів цитокінів еякуляту на сперматозоїди не з'ясовано.

Мета дослідження: визначення патогенетично значущих

імунологічних ознак екскреторно-токсичного неплідді (ЕТН) у хворих на хронічний абактеріальний простатит (ХАП) на підставі аналізу взаємозв'язків концентрації цитокінів в еякуляті та морфо-функціональних характеристик сперматозоїдів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Комплексне імунологічне та сперматологічне дослідження проведено у 136 хворих на ХАП та 20 практично здорових чоловіків репродуктивного віку (25–47 років), які проходили обстеження у відділенні сексопатології ДУ «Інститут урології НАМН України».

Концентрацію цитокінів в еякуляті визначали імуноферментним аналізом на напівавтоматичному аналізаторі STAT-Fax 303 Plus (США) з використанням тест-систем для кількісного визначення ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-17, ІЛ-23, простатспецифічного антигену (PSA) виробництва «Укрмедсервіс»; «Immundiagnostik» – секреторного імуноглобуліну А (sIgA); «Hycult biotechnology» – інгібітора секреторної лейкопротеази (SLPI); «Diacclone» – TNF-α; «DRG Instruments GmbH» – TGF-β₁; «Invitrogen» – ендотеліального фактора росту (VEGF). Макро- та мікроскопічне дослідження еякуляту було проведено за стандартним протоколом дослідження [3]. Результати сперматологічного аналізу порівнювали з нормативними даними ВООЗ, які прийняті і в Україні.

Отримані результати досліджень оброблені за допомогою програмного продукту «MedStat» (Україна) з розрахунком медіани (чи середньої) вибіркового значення (M), дисперсії (σ), стандартної помилки середніх значень (m), квартилей, інтервальної оцінки, коефіцієнтів кореляції (r) Спірмена (параметричний, rS) і Кендела (непараметричний, rK). Вибір процедур аналізу і критеріїв перевірки статистичних гіпотез програми «MedStat» відповідає міжнародним стандартам GCP, ICH та відповідає вимогам доказової медицини (EBM) [1].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На першому етапі роботи визначені референтні значення цитокінів в еякуляті чоловіків контрольної групи. Контрольну групу склали чоловіки з умовно встановленою фертильністю без урогенітальної патології (чоловіки вагітних жінок, які проходили обстеження з приводу акушерської патології). В зв'язку з тим, що пацієнтам контрольної групи не проводили комплексне клініко-лабораторне обстеження, показники спермограми, що характеризують функції головних та додаткових статевих залоз, були критеріями відсутності патології, що впливає на їхній фертильний потенціал.

Установлено, що у чоловіків, показники спермограми яких відповідають нормативним стандартам ВООЗ, сперматозоїди еякуляту знаходяться в оточенні цитокінів, основні біологічні ефекти потенціюють як прозапальні (SLPI, TNF-α, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-17, ІЛ-23), протизапальні та ростові (TGF-β, VEGF) (табл. 1).

Слід зазначити, що концентрація прозапальних цитокінів в еякуляті не відрізняється від рівня, що встановлений в периферійній крові у практично здорових чоловіків (p>0,05), проте концентрація ростових факторів TGF-β₁ і VEGF суттєво збільшена (p<0,001). За даними кореляційного аналізу у практично здорових чоловіків значні індивідуальні коливання наведених показників, наприклад для SLPI, це від 870 до 2150 пг/мл, не впливають на макро- і мікроскопічні характеристики еякуляту (p>0,05). Тільки концентрація PSA в еякуляті перебуває у прямому кореляційному зв'язку (rS=0,09; p<0,05) з відсотком активно рухливих сперматозоїдів (категорії а). Ці дані знаходяться у відповідності до тих, де показано, що фізіологічна функція

Таблиця 1
Референтні значення показників цитокінів, SLPI, sIgA та PSA в еякуляті чоловіків контрольної групи

Показник	% позитивних еякулятів	Значення (пг/мл)
SLPI	100	1315/ 870 : 2150
sIgA	100	453±57,5
TNF-α	100	11,5 / 5,3 : 26,8
ІЛ-6	100	26,2 / 8,4 : 41,8
ІЛ-8	100	72,0 / 24,5 : 119,4
ІЛ-17	60	11,6 / 0 : 21,8
ІЛ-23	100	8.8 / 4.5 : 15.0
TGF-β ¹ (1:5)	100	375,5 / 174,5 : 607,0
VEGF (1:200)	100	2850 / 2600 : 2930
PSA	100	6, 3 / 2,8 : 8,4

Примітка: * – різниця достовірна між показниками здорових чоловіків та хворих на ХАП.

Таблиця 2
Показники цитокінів, SLPI, sIgA та PSA в еякуляті хворих на ХАП

Показник	% позитивних еякулятів	Значення (пг/мл)
SLPI	100	5271,2±871,2*
sIgA	100	1379,0±70,5*
TNF-α	100	125,4±17,9*
ІЛ-6	100	191,3 9,8 *
ІЛ-8	100	366,7±49,5*
ІЛ-17	60	15,3 / 9,2 : 23,7
ІЛ-23	100	7,9 / 3,7 : 18,5
TGF-β ¹ (1:5)	100	95,5 / 92,4 : 103,2*
VEGF (1:200)	100	2646 / 2162 : 2756
PSA	100	8,4±1,9

PSA в сім'яній плазмі полягає в розрідженні та зменшенні в'язкості еякуляту шляхом деградації у низькомолекулярні фрагменти гелю семеногеліну I та II, що синтезується у сім'яних пухирцях [10]. Після розділення еякуляту на «простатичну» та «везикулярну» фракції саме в простатичній сперматозоїди більш рухливі.

Наступним етапом роботи було визначення концентрації імунних факторів в еякуляті хворих на ХАП (табл. 2).

Установлено, що хронічне абактеріальне запалення передміхурової залози супроводжується статистично підтвердженим збільшенням в еякуляті концентрацій sIgA, SLPI, TNF-α, ІЛ-6, ІЛ-8 та зниженням TGF-β₁. У зв'язку з тим, що порушення цитокін-опосередкованих реакцій між клітинами імунної системи та сперматозоїдами може бути важливою складовою частиною в патогенезі ЕТН у хворих на ХАП, далі наведені результати аналізу кореляційного зв'язку між імунними показниками еякуляту та морфологічними і функціональними характеристиками сперматозоїдів.

У табл. 3 наведені результати багатфакторного аналізу, за якими коефіцієнти кореляції між цитокінами та макрокопічними і мікроскопічними показниками спермограми у хворих на ХАП, ускладнений ЕТН, були достовірними (p<0,05).

Визначено, що формування патоспермії кореляційно пов'язано з продукцією TGF-β₁, VEGF і ІЛ-17 (p<0,05) та не

Коефіцієнти парної кореляції (Кендела) для показників спермограми та цитокінів в еякуляті у хворих на ХАП

Показник	TNF-α	IL-6	IL-8	TGF-β1	IL-17	IL-23	VEGF	sIgA	Лейк	Кількість сперматозоїдів		Живі сперм	Рухливість сперматозоїдів			Патологічні форми сперматозоїдів				Індекс терато-зоо-спермії
										1 • 10 ⁶ од/мл	• 10 ⁶ од/об'ємі		а	в	D	норма	голівка	шія	хвіст	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
TNF-α								0.293												
IL-6			0.677					0.382	0.300											
IL-8		0.677						0.316	0.296											
TGF-β1																	-0.266			
IL-17						0.740							0.428		-0.366					
IL-23	0.293	0.382	0.316		0.740															
VEGF													0.726							
sIgA																				
9		0.300	0.296																	
10											0.754		0.320		-0.426	0.378				-0.376
11										0.754					-0.401	0.317		-0.293		
12														0.889						
13					0.428		0.726			0.365	0.320				-0.779	0.291	-0.309			
14												0.889								
15					-0.366					-0.426	-0.401		-0.779		-0.327					0.364
16										0.378	0.317		0.291		-0.327		-0.411		-0.518	-0.405
17				-0.266											-0.309		-0.411			
18																				0.361
19																-0.518				0.306
20										-0.376					0.364	-0.405		0.361	0.306	

Примітка: наведені значення коефіцієнтів, що відрізняються від 0 (p<0,05).

залежить від рівня sIgA, SLIP1, TNF-α, IL-6, IL-8, IL-23 (p>0,05).

Установлено існування міцного (rP=0,726) кореляційного зв'язку між рівнем VEGF в еякуляті та відсотком активно-рухливих сперматозоїдів (p=0,027), зворотної залежності (p<0,05) між концентрацією TGF-β₁ та відносною кількістю дефектних сперматозоїдів з патологією голівки (rK=-0,266), прямого зв'язку між концентрацією IL-17 і відносною кількістю активно-рухливих з поступальним рухом сперматозоїдів (rK=0,428) та зворотного зв'язку з нерухливими сперматозоїдами (rK=-0,366).

Також за результатами кореляційного аналізу показників стандартної спермограми, що формуються у хворих на ХАП при порушеному балансі цитокінів в еякуляті, встановлено існування достовірного кореляційного зв'язку між показниками кількості сперматозоїдів (в 1 мл еякуляту та в загальному об'ємі) та відсотком активно-рухливих (відповідно rK=0,365 і rK=0,320) і нерухливих (відповідно rK=-0,426, rK=-0,401) сперматозоїдів. Кількість сперматозоїдів в 1 мл еякуляту та загальному об'ємі також прямо пов'язана з кількістю морфологічно нормальних сперматозоїдів (відповідно rK=0,378, rK=0,317) та зворотно – із відносною кількістю дефектних сперматозоїдів з патологією голівки (rK=-0,293).

Збільшення кількості нерухливих сперматозоїдів в еякуляті у хворих на ХАП кореляційно пов'язане зі зниженням кількості морфологічно нормальних сперматозоїдів (rK=-0,327). Відносна кількість сперматозоїдів з патологією

голівки та хвоста у хворих на ХАП знаходиться в зворотному зв'язку з кількістю сперматозоїдів нормальної будови (відповідно rK=-0,411 і rK=-0,518). Кореляційний аналіз підтверджує вплив цих показників на індекс терато-зооспермії у хворих на ХАП.

У цьому зв'язку важливими є результати досліджень, які свідчать про роль цитокінів у забезпеченні регуляції доімплантаційних етапів формування бластоцисти та її імплантації in vivo. Пов'язане це може бути, що найменше, з двома причинами. По-перше, сперматозоїди експресують рецептори до низки цитокінів (отже, можуть їх зв'язувати) і, як наслідок, їхній функціональний стан може змінюватися [2]. По-друге, в експериментальних роботах було визначено, що не тільки сперматозоїди, а й сім'яна плазма потрапляє до матки. Отже, реакції, що виникають після контакту цитокінів еякуляту з епітеліальними, стромальними і імунними клітинами в ендометрії, можуть впливати на результати імплантації бластоцисти. 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, індукують каскад подій, результатом яких є посилення ендогенної експресії і продукції цитокінів (LIF, GM-CSF та інших ростових факторів) з ембріотрофічними властивостями [5]. Позитивна роль факторів сім'яної плазми в доімплантаційному розвитку та імплантації бластоцисти виявлена при лікуванні неплодних подружніх пар з використанням допоміжних репродуктивних технологій; однією з причин не-

можливості імплантації бластоцисти при використанні допоміжних репродуктивних технологій вважається порушення властивостей еякуляту за рівнем цитокінів [5]. З урахуванням даних літератури, згідно з якими Flk- і Flt1-рецептори до VEGF присутні на зрілих сперматозоїдах [9], а зв'язування TGF- β_1 постакросомальним регіоном голівки сперматозоїдів відіграє критичну роль в попередженні імунологічного реагування на сперматозоїди в жіночому репродуктивному тракті [7], порушення балансу цитокінів в еякуляті хворих на ХАП впливає на формування непліддя.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що в еякуляті практично здорових чоловіків знаходиться значна кількість цитокінів про- та протизапальної дії, біологічні ефекти яких на локальному рівні забезпечують фертильний потенціал еякуляту. Індивідуальні коливання показників SLPI, sIgA, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-17, IL-23, TGF- β_1 , VEGF в еякуляті у практично здорових чоловіків не впливають на макро- і мікроскопічні характеристики сперматозоїдів еякуляту.

2. Порушення функціонального стану клітин, що продукують в еякулят цитокіни, є складовою формування екскреторно-токсичного непліддя у хворих на ХАП. Формування патоспермії кореляційно пов'язано з продукцією TGF- β_1 , VEGF і IL-17 ($p < 0,05$) та не залежить від рівня sIgA, SLPI, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-23 ($p > 0,05$).

Перспективи подальших досліджень. Подальше визначення механізмів імунного реагування на локальному рівні, насамперед за участю TLR-залежної продукції цитокінів, має як теоретичне значення, так і відкриває практичні можливості контролю та розроблення більш ефективного лікування хворих на запальні захворювання органів сечостатевої системи.

Эффекты цитокинов эякулята на показатели патоспермии у больных с хроническим абактериальным простатитом, осложненным экскреторно-токсическим бесплодием
Г.Н. Дранник, И.И. Горпинченко, Т.В. Порошина, К.Р. Нуриманов, В.С. Савченко, Л.И. Добровольская, И.И. Тарасова

Обобщены результаты исследования ELISA-методом на STAT-FAX 303 Plus концентраций цитокинов в семенной плазме 136 пациентов с хроническим абактериальным простатитом. Установлено, что нарушение функционального состояния клеток, продуцирующих в эякулят цитокины, является составляющей формирования экскреторно-токсического бесплодия у больных с хроническим абактериальным простатитом. Показатели патоспермии коррелируют с концентрацией TGF- β_1 , IL-17 и VEGF в эякуляте.

Ключевые слова: хронический простатит, иммунитет, цитокины, фертильность.

Effects of seminal cytokines of morphological abnormalities spermatozooids from infertile patients with chronic abacterial prostatitis
G.N. Drannik, I.I. Gorpynchenko, T.V. Poroshina, K.R. Nurimanov, V.S. Savchenko, L.I. Dobrovolska, I.I. Tarasova

136 infertile patients with chronic abacterial prostatitis were assessed for seminal cytokines by ELISAs using STAT-FAX 303 Plus. It has been proved that the disturbance of the functional state of cells producing the cytokines into ejaculate is a compound in formation of excretory toxic infertility in the patients with chronic abacterial prostatitis. The formation of pathospermia is correlative with concentration of TGF- β_1 , IL-17 and VEGF.

Key words: chronic prostatitis, immunity, cytokines, fertile.

Сведения об авторе

Дранник Георгий Николаевич - ГУ «Институт урологии НАМН Украины», 04053, г. Киев, ул. Юрия Коцюбинского, 9а; тел.: (044) 486-66-60

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Лях Ю.М. Основы компьютерной биостатистики: анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом MedStat / Ю.М. Лях, В.Г. Гурьянов, В.Н. Хоменко, О.А. Панченко / Донецк: 2006. – 211 с.
- Роль цитокинов в регуляции сперматогенеза: современный взгляд на проблему / Б.И. Айзикович, И.В. Айзикович, О.Ю. Верба [и др.] // Иммунология. – 2008. – № 3. – С. 192–193.
- Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью, 2001.
- Хаитов Р.М. Значение функциональной активности Толл-подобных рецепторов и других рецепторов врожденной иммунной системы в физиологии почек // Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, М.В. Пашенков // Рос. Физиол. Журн. им. И.М. Сеченова – 2007. – Т. 91, № 5. – С. 505–520.
- 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.
- Черешнев В.А. Иммунология воспаления: роль цитокинов / В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 3. – С. 361–368.
- 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. – V. 17. – P. 1–6.
- Kundu S.D. The Toll-like receptor pathway: a novel mechanism of infection-induced carcinogenesis of prostatic epithelial cells / S.D. Kundu, C. Lee, B.K. Billips // Prostate. – 2008. – V. 68. – P. 223–229.
- Obermair A. Vascular endothelial growth factor and its receptors in male fertility / A. Obermair, A. Obruca, M. Pohl [et al.] // Fertil. Steril. – 1999. – V. 72. – P. 269–275.
- Robert M. Semenolegins I: a coagulum forming, multifunctional seminal vesicle protein / M. Robert, C. Gagnon // Cell. Mol. Life Sci. – 1999. – V. 55. – P. 944–960.
- Steiner G.E. The Picture of the Prostatic Lymphokine Network Is Becoming Increasingly Complex / G.E. Steiner, B. Djavan, G. Kramer [et al.] // Rev. Urol. – 2007. – Vol. 4 (4). – P. 171–177.