

Особливості продукції секреторного лейкопротеазного інгібітору та інтерлейкіну-8 в еякуляті хворих на хронічний абактеріальний простатит

І.І. Горпинченко, К.Р. Нуріманов, Т.В. Порошина, В.С. Савченко, Г.М. Драннік
 ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ

У статті наведені дані оцінювання рівня секреторного лейкопротеазного інгібітору (SLPI) та інтерлейкіну-8 (IL-8) в еякуляті у хворих на хронічний абактеріальний простатит (ХАП). Хронічне абактеріальне запалення передміхурової залози супроводжується достовірним збільшенням в сім'яній плазмі концентрації SLPI ($5127,5 \pm 971,7$ пг/мл, $p < 0,001$) у порівнянні з показниками здорових чоловіків; концентрація SLPI у здорових чоловіків становила $1315/870 : 2150$ пг/мл. Концентрація IL-8 в еякуляті хворих ХАП ($318/272,35 : 504,25$ пг/мл) також була статистично значущо ($p < 0,05$) вище, ніж у здорових донорів ($72,0/24,5 : 119,4$ пг/мл).

Установлено, що немає статистично достовірної різниці показників SLPI і IL-8 в еякуляті у хворих на ХАП з піоспермією ($> 1 \cdot 10^6$ /мл) та при ХАП з нормальною кількістю лейкоцитів в еякуляті ($< 1 \cdot 10^6$ /мл).

Результати дослідження свідчать, що IL-8 та SLPI – медіатори запалення, механізми продукції яких порушені у пацієнтів з ХАП.

Ключові слова: хронічний абактеріальний простатит, імунітет, SLPI, IL-8.

Одним з перспективних підходів до вирішення проблеми патогенезу хронічного простатиту (ХП) та безпліддя, що формується під час його перебігу, може бути визначення спектра та рівня розчинних імунних факторів в еякуляті з урахуванням даних щодо їх походження та реалізації біологічної дії.

У цьому зв'язку важливими є нові дані щодо патогенетично значущих біологічних ефектів секреторного лейкопротеазного інгібітору (secretory leucoprotease inhibitor – SLPI, відомого також як інгібітор І сім'яної рідини (HUSI I) [16] та інтерлейкіну-8 (IL-8). Посилений синтез SLPI і IL-8 є індукованим процесом, а найбільш сильними їхніми індукторами є інфекційні антигени [3].

SLPI постійно виробляється епітеліальними клітинами слизових оболонок, нейтрофільними гранулоцитами і макрофагами для протидії специфічних протеаз – катепсину G, еластази і трипсину з нейтрофільних гранулоцитів, серину з моноцитів, хімази і триптази з тучних клітин і формують одну з головних частин захисту слизових оболонок. У нормі основними продуцентами SLPI в еякуляті є епітеліальні клітини протока передміхурової залози [9, 11].

У контексті зазначеного заслуговують на увагу отримані в останні роки дані літератури, які свідчать, що ферментативна активність PSA – основної протеази еякуляту – може впливати на протеолітичну нестабільність SLPI. Так, *in vitro* встановлений дозозалежний ефект руйнування SLPI від впливом PSA: *in vitro* руйнування SLPI спостерігається у зразках еякуляту з PSA-збереженою активністю; в зразках еякуляту з видаленим PSA концентрація SLPI залишається високою [11]. Відомо, що фізіологічна функція 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 [12]. Вважається, що такий процес значно зменшує ефект семеногеліну на рухливість сперматозоїдів: після розділення еякуляту на «простатичну» та «везикулярну» фракції, саме в простатичній сперматозоїди більш рухливі [1]. Важливо підкреслити, що SLPI бере участь у відновленні руху сперматозоїдів, втраченому під впливом еластази. Крім того, нейтрофільна еластаза зменшує акросомальну реакцію сперми, а додавання SLPI її відновлює [17].

Згідно з новими даними експериментальних досліджень SLPI виявляє також антибактеріальні і протизапальні властивості. Механізм SLPI-опосередкованої антибактеріальної активності полягає в зв'язуванні інгібітору протеази з бактеріальними мРНК і ДНК та інгібіції еластаза-опосередкованої деградації опсонинів і рецепторів, які беруть участь у фагоцитозі та регуляції протеолітичного процесинга антимікробних пептидів, наприклад, кателіцидинів [13]. Важливо, що SLPI пригнічує індуквану ліпополісахаридом (LPS) і ліпoteйхоєвою кислотою (LTA) активацію NF- κ B і залежну від Toll-ліке рецепторів (TLR) експресію генів прозапальних цитокінів в епітеліальних клітинах, що впливає на перебіг локального запалення [8]. Так, уроепітеліоцити, позитивні за TLR-4, не відповідають на LPS через відсутність CD-14-рецепторів на них, проте відповідають TLR-4-залежною секрецією IL-8 при взаємодії з P-фімбріями E.coli [4]. Дуже важливо, що визволення LPS відбувається не тільки під час руйнування бактеріальної клітини, а й при збільшенні кишкової проникності та внаслідок лікування вже існуючої бактеріальної інфекції [18]. За даними [14] *in vitro* LPS-індуковане збільшення SLPI дозозалежно впливає на хемотаксис нейтрофільних гранулоцитів (прямий зв'язок) та їхній апоптоз (зворотний зв'язок); при цьому SLPI вже не впливає на IL-8-реліз та/чи адгезію нейтрофільних гранулоцитів до фібронектину. Відомо, що таку саму функцію хемоатрактанту для нейтрофільних гранулоцитів виконує IL-8.

Також SLPI бере участь у процесах вільнорадикального окиснення – одного з універсальних механізмів пошкодження клітин при запаленні. Так, SLPI впливає на збільшення глутатіону, що опосередковано діє на показники оксидативного стресу. Преінкубація клітин зі SLPI призводить в LPS-стимульованих моноцитах до інгібіції простагландин-H-синтази-2 (PGHS-2), ключового ферменту в PGE2 цАМФ-залежного шляху синтезу матричних metalloпротеїназ (ММП). Інгібіція PGHS-2 відбувалась в діапазоні 0,1–10 мкг/мл SLPI. Інгібіція PGHS-2 супроводжується зниженням PGE2 в результаті пригнічення інтерстиціальної колагенази (ММП-1) і желатинази В (ММП-9) [13].

Мета дослідження: встановити особливості продукції SLPI і IL-8 в еякуляті у хворих на хронічний абактеріальний простатит/синдром хронічного тазового болю (ХАП/СХТБ).

Показник	% позитивних еякулятів	Медіана / 25% кватиль: 75% кватиль
SLPI (здорові)	100	1315/870 : 2150
IL-8 (здорові)	100	72,0/24,5 : 119,4
SLPI (ХАП)	100	5012/4093 : 8750*
IL-8 (ХАП)	100	318/272,35 : 504,25*

Примітка.* – різниця достовірна між показниками здорових та хворих чоловіків ($p < 0,05$).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Визначення SLPI та IL-8 в сім'яній плазмі еякуляту проведено у 42 хворих на ХАП/СХТБ та 15 практично здорових чоловіків імуноферментним методом та відповідно до інструкції виробників тест-систем «Нусcult biotechnology» (Нідерланди) та «Укрмедсервіс» (Україна). Статистичне оброблення результатів дослідження проводили за допомогою одно- та багатофакторного дисперсійного аналізу (програми «Microsoft Excel» і «MedStat»). Кількісні показники обробляли методами математичної статистики з розрахунком медіани (середньої) вибіркового значень (M), дисперсії (σ), стандартної помилки середніх значень (m), кватилей, інтервального оцінювання, коефіцієнтів кореляції (r) Спірмена (параметричний критерій кореляції Спірмена, rS) і Кендала (непараметричний критерій кореляції Кендала, rK), вірогідності статистичних показників (p). Вибір процедур аналізу і критеріїв перевірки статистичних гіпотез програми «MedStat» відповідає міжнародним стандартам GCP, ICH та задовольняє вимогам доказової медицини [2].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Установлено, що SLPI і IL-8 були наявні у всіх зразках еякуляту, а їхні показники були збільшені у всіх обстежених хворих відносно контролю ($p < 0,05$).

ХАП супроводжується достовірним ($p < 0,001$) збільшенням у сім'яній плазмі концентрації SLPI (5012 пг/мл, $m=1145$) при мінімальних і максимальних значеннях показника відповідно 2588 і 9016 пг/мл (таблиця).

Концентрація IL-8 в еякуляті обстежених хворих у середньому дорівнювала 318 пг/мл ($m=23,16$) при розподілі показника від 149,5 до 650 пг/мл; у здорових донорів відповідно 72,0 пг/мл ($m=24,5$).

Аналіз даних свідчить про відсутність кореляційної залежності між показниками IL-8 та SLPI у хворих на ХАП ($rK=0$; $p > 0,05$).

Складність трактування піоспермії, що спостерігається у хворих як при абактеріальному простатиті запальної (ХАП ІІА), так і незапальної (ХАП ІІВ) категорій є однією з проблем його діагностики [156]. А саме, невідома причина лейкоцитарної реакції за відсутності визначеної стандартними методами бактеріальної інфекції. Ці положення відображені і в класифікації простатитів (NIH, NIDDK, 995/2000 pp.) [10].

Для того щоб з'ясувати, чи пов'язаний рівень локальної продукції SLPI і IL-8 з лейкоцитами – основним показником інфекційного запалення передміхурової залози за відсутності аеробної бактеріальної флори в секреті передміхурової залози та еякуляті, був проведений порівняльний аналіз залежності концентрації цих факторів від критичної ($1 \cdot 10^6$ од/мл) кількості лейкоцитів в еякуляті.

Установлено, що немає статистично достовірної різниці показників SLPI і IL-8 в еякуляті у хворих на ХАП з піоспермією ($> 1 \cdot 10^6$ /мл) та при ХАП з нормальною кількістю лейкоцитів ($< 1 \cdot 10^6$ /мл). Збільшення локальної продукції IL-8 в еякуляті у хворих з піоспермією більш виражено, ніж у хворих з нормальною кількістю лейкоцитів ($p=0,090$) (малюнок).

У зв'язку з тим, що основною мішенню IL-8 є ней-



Інтервальне зображення концентрації IL-8 у хворих на ХАП з кількістю лейкоцитів, що менше та більше за $1 \cdot 10^6$ од/мл

трофільні гранулоцити, на які він діє як хемоатрактант і активатор, далі нами проведений аналіз на взаємозалежність показників IL-8 та лейкоцитів в еякуляті хворих на ХАП.

Установлено, що у хворих на ХАП з лейкоцитоспермією рангова кореляція та лінійний кореляційний зв'язок між концентрацією IL-8 та кількістю лейкоцитів в еякуляті відсутній, відповідно $rK=0$ ($p > 0,05$) і $rS=0$ ($p > 0,05$). Проте у хворих з кількістю лейкоцитів в еякуляті меншою ніж $1 \cdot 10^6$ /мл існує рангова кореляція між цими показниками ($rK=0,296$; $p=0,04$); лінійна кореляційна залежність показників відсутня ($rS=0$; $p=0,339$).

Отже, на локальному рівні тільки при незначній кількості лейкоцитів ці показники перебувають в кореляційному зв'язку.

Імовірно, що існування рангової кореляції між показниками IL-8 та кількістю лейкоцитів при незначній кількості нейтрофільних гранулоцитів в еякуляті може бути показником активації не тільки нейтрофільних гранулоцитів, а й інших клітин–продуцентів IL-8. Відомо, що головними клітинами–продуцентами IL-8 є моноцити/макрофаги, проте він може продукуватися і багатьма іншими типами клітин: лімфоцитами, нейтрофільними гранулоцитами, епітеліальними клітинами, фібробластами [3].

Можливість продукції IL-8 простатичними клітинами не визначена. За даними F.A. Ferrer, епітеліальні клітини здорової передміхурової залози IL-8 – негативні [5]; за даними K.H. Grabstein, IL-8 визначається в нормі та збільшується *in situ* при доброякісній гіперплазії передміхурової залози [7]. Ще одне важливе спостереження стосується особливостей його продукції клітинами передміхурової залози: експресія mRNA IL-8 у пацієнтів с карциномою передміхурової залози в клітинах периферійної крові вг'ятеро збільшена [15]. У зв'язку з тим, що *in vitro* IL-8 діє як паракринний індуктор фактора росту фібробластів 2-го типу (FGF-2), потужного фактора росту для простатичних стромальних клітин, автори роботи [6] вважають, що локальне посилення продукції IL-8 впливає на збільшення стромальних клітин в передміхуровій залозі. Вважаємо, що за відсутності лейкоцитарної реакції в еякуляті, збільшення локальної продукції прозапального IL-8 є показником активації функціонального стану цих клітин–продуцентів IL-8. У свою чергу збільшення IL-8 – механізм залучення лейкоцитів в зону запалення, який порушено при незапальній формі ХАП.

Співставлення отриманих нами фактичних даних з літературними дає підставу вважати, що у хворих на ХАП

збільшення продукції SLPI в еякуляті може бути наслідком необхідності адекватної інгібіції специфічних протеаз, найбільш потужними індукторами яких є інфекційні антигени – ліганди для TLR. Проте, враховуючи, що на період обстеження у пацієнтів не були виявлені симптоми уретриту та інфікування еякуляту, секрету передміхурової залози і сечі аеробною бактеріальною фло-

рою, збільшення локальної продукції SLPI при хронічному абактеріальному запаленні передміхурової залози можна розглядати також як показник активації епітеліальних клітин передміхурової залози для реалізації таких біологічних ефектів SLPI, які забезпечують фертильний потенціал еякуляту та імунорегуляцію процесів, що супроводжують запліднення.

Особенности продукции секреторного лейкопротеазного ингибитора и интерлейкина-8 в эякуляте больных хроническим абактериальным простатитом

И.И. Горпинченко, К.Р. Нуриманов, Т.В. Порошина, В.С. Савченко, Г.Н. Дранник

В статье представлены данные оценки уровня секреторного лейкопротеазного ингибитора (SLPI) и интерлейкина-8 (IL-8) в эякуляте у больных хроническим абактериальным простатитом (ХАП). Хроническое абактериальное воспаление предстательной железы сопровождается достоверным ($p < 0,001$) увеличением в семенной плазме концентрации SLPI ($5012/4093 : 8750$ пг/мл) в сравнении с показателями здоровых мужчин. Концентрация SLPI в эякуляте здоровых мужчин составила $1315/870 : 2150$ пг/мл. Концентрация IL-8 в эякуляте больных ХАП ($318/272,35 : 504,25$ пг/мл) также была статистически значимо ($p < 0,05$) выше, чем у здоровых доноров ($72,0/24,5 : 119,4$ пг/мл). Установлено, что нет статистически значимой разницы показателей SLPI и IL-8 в эякуляте у больных ХАП с олигоспермией ($> 1 \cdot 10^6$ /мл) и при ХАП с нормальным количеством лейкоцитов в эякуляте ($< 1 \cdot 10^6$ /мл).

Результаты исследования свидетельствуют, что IL-8 и SLPI – медиаторы воспаления, механизмы продукции которых нарушены у пациентов с ХАП.

Ключевые слова: хронический абактериальный простатит, иммунитет, SLPI, IL-8.

Features of production of secretory leucoprotease inhibitor and interleukin-8 in the ejaculate of patients with chronic abacterial prostatitis

I.I. Gorpynchenko, K.R. Nurimanov, T.V. Poroshina, V.S. Savchenko, G.N. Drannik

The article presents the results of evaluation of SLPI and IL-8 in the ejaculate of patients with chronic abacterial prostatitis.

Chronic abacterial prostatitis is accompanied by a significant increase in semen plasma concentration of SLPI ($5127,5 \pm 971,7$ pg/ml, $p < 0,001$) compared to those of healthy men; SLPI concentration in healthy men was $1315/870 : 2150$ pg/ml. The concentration of IL-8 in the ejaculate of patients with chronic abacterial prostatitis ($366,7 \pm 49,5$ pg/ml) was also statistically significant ($p < 0,05$) higher than in healthy donors ($72 \pm 24,5$ pg/ml).

It is established that there is no statistically significant difference SLPI and IL-8 in the ejaculate in patients with chronic abacterial prostatitis with pyospermia ($> 1 \cdot 10^6$ /ml) and chronic abacterial prostatitis with normal number of white blood cells in the ejaculate ($< 1 \cdot 10^6$ /ml).

Conclusion: IL-8 and SLPI – inflammatory mediators, mechanisms which products affected in patients with chronic abacterial prostatitis.

Key words: chronic abacterial prostatitis, immunity, SLPI, IL-8.

Сведения об авторе

Горпинченко Игорь Иванович – ГУ «Институт урологии НАМН Украины», 04053, г. Киев, ул. Ю. Коцюбинского, 9а.
E-mail: sexology@sexology.kiev.ua

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Григорьев М.Э. Значение определения концентрации простатического специфического антигена и его молекулярных форм в сыворотке крови и моче больных с воспалительным процессом в предстательной железе / М.Э. Григорьев, А.Б. Степенский // Урология. – 2001. – № 5. – С. 45-47.
2. 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.
3. Маянский А.Н. Цитокины и медиаторные функции уроэпителия в воспалительных реакциях мочевыводящей системы / А.Н. Маянский // Цитокины и воспаление. – 2003. – № 3. – С. 15-18.
4. Чикилева И.О. Двойственная роль толлподобных рецепторов в регуляции противоопухолевого иммунитета / И.О. Чикилева, А.В. Караулов, Н.Ю. Анисимова, М.В. Киселевский // Иммунология. – 2010. – № 1. – С. 52-55.
5. Ferrer F.A. Angiogenesis and prostate cancer: in vivo / F.A. Ferrer, L.J. Miller, R.I. Andrawis [et al.] // Urology. – 1998. – Vol. 51. – P. 161-167.
6. Giri D. Interleukin-8 is a paracrine inducer of fibroblast growth factor 2, a stromal and epithelial growth factor in benign prostatic hyperplasia / D. Giri, M. Iltmann // Am. J. Path. – 2001. – V. 159. – P. 139-147.
7. Grabstein K.H. Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor / K.H. Grabstein, J. Eisenman, K. Shanebeck [et al.] // Science. – 1994. – V. 264. – P. 965-968.
8. Greene C.M. Secretory Leucoprotease Inhibitor Impairs Toll-Like Receptor 2- and 4-Mediated Responses in Monocytic Cells / C.M. Greene, N.G. McElvaney, S.J. O'Neill [et al.] // Infection and Immunity. – 2004 (June). – P. 3684-3689.
9. Hall S. Host Defense Proteins of the Male Reproductive Tract / S.H. Hall, K.G. Hamil, F.S. French // J. Androl. – 2002. – V. 23 (5). – P. 585-597.
10. Krieger N. Seminal fluid fundings in men with nonbacterial prostatitis and prostatodynia / N. Krieger, R.E. Berger, S.O. Ross [et al.] // Andrologia – 1996. – Vol. 17. – P. 310-318.
11. Ohlson K. SLPI in the male genital tract: PSA – induced proteolytic processing in human semen and tissue localization / K. Ohlson, A. Byartell, H. Liilia // J. Andrology. – 1995. – Vol. 16. – P. 64-74.
12. Robert M. Semenoleglin I: a coagulum forming, multifunctional seminal vesicle protein / M. Robert, C. Gagnon // Cell. Mol. Life Sci. – 1999. – Vol. 55. – P. 944-960.
13. Salleneave J.M. Secretory leukocyte protease inhibitor and elafin/trappin-2. Versatile mucosal antimicrobials and regulators of immunity / J.M. Salleneave // American journal of respiratory cell and molecular biology. – 2010. – Vol. 42, № 6. – P. 635-643.
14. Subramaniyam D. Secretory leukocyte protease inhibitor inhibits neutrophil apoptosis / D. Subramaniyam, C. Hollander, U. Westin [et al.] // Respiriology. – 2011. – Vol. 16, № 2. – P. 300-307.
15. Veltri R.W. Interleukin-8 serum levels in patients with benign prostatic hyperplasia and prostate cancer / R.W. Veltri, M.C. Miller, G. Zhao [et al.] // Urology. – 1999. – V. 53. – P. 139-147.
16. Williams S.E. SLPI and elafin: one glove, many fingers / S.E. Williams, T.I. Brown, A. Roghanian, J.M. Salleneave // Clinical Science. – 2006. – Vol. 110. – P. 21-35.
17. Yukinobu O. The expression of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in the Fallopian tube: SLPI protects the acrosome reaction of sperm from inhibitory effects of elastase / O. Yukinobu, S. Koichiro, Z. Qing [et al.] // Human Reproduction. – 2002. – Vol. 17, № 10. – P. 2517-2522.
18. Xiaoyuan Wang. Endotoxins: structure, function and recognition / Xiaoyuan Wang, P.J. Quinn // springer science+business media b.v., 2010. – 415 p.

Статья поступила в редакцию 22.05.2015