

# Імунні фактори в патогенезі запальної та незапальної форм хронічного абактеріального простатиту

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

Особливості патогенезу запальної та незапальної форм хронічного абактеріального простатиту (ХАП) є предметом сучасної наукової дискусії.

**Мета дослідження:** вивчення ролі імунних показників у патогенезі ХАП для визначення нових диференційних ознак запальної та незапальної форм.

**Матеріали та методи.** Обстежено 42 хворих на ХАП. У контрольну групу увійшли 30 здорових чоловіків. Визначення продукції цитокінів, статевих і гонадотропних гормонів крові проведено імуноферментним методом на багатоканальному фотометрі «Sunrisi» № 1011006068 (Австрія).

**Результати.** Встановлено, що хронічне абактеріальне запалення передміхурової залози супроводжується достовірним збільшенням у сім'яній плазмі та сироватці крові концентрації SLPI, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-17 та зниженням концентрації IL-6 та TGF- $\beta$ 1 порівняно з даними здорових чоловіків ( $p < 0,05$ ). Статистично значущої різниці між показниками SLPI, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-23, IL-17, TGF- $\beta$ 1 в еякуляті хворих запальної та незапальної форм ХАП не встановлено ( $p < 0,05$ ). Концентрація IL-6 в еякуляті хворих на запальну форму ХАП значущо більша, ніж у хворих з незапальною формою ХАП ( $p = 0,010$ ).

**Заключення.** Запальна та незапальна форми ХАП патогенетично близькі щодо змін концентрації досліджених цитокінів за виключенням IL-6. В обох формах присутні ознаки запалення. У зв'язку з цим пропонується використовувати терміни «лейкоцитарний» та «безлейкоцитарний» ХАП.

**Ключові слова:** хронічний абактеріальний простатит, цитокіни, лейкоцитарний хронічний абактеріальний простатит, безлейкоцитарний хронічний абактеріальний простатит.

Хронічний абактеріальний простатит (ХАП) – найбільш поширений варіант хронічного запалення передміхурової залози (ПЗ), який є окремим випадком хронічного бальбоного синдрому.

Етіологія і патогенез ХАП залишаються невирішеною проблемою сучасної урології. Існує низка дискусійних питань, які потребують подальшого глибокого вивчення. Сучасна класифікація простатиту Національного інституту здоров'я США (NIH/NIDDK; 1995/2000) виділяє запальну (А) та незапальну (В) форми ХАП/синдрому хронічного тазового болю (ХАП/СХТБ).

Загальною ознакою цих форм є відсутність або незначна кількість (до  $10^4$ ) умовно-патогенних бактерій у секреті ПЗ під час культурального дослідження. Розрізняє ці форми наявність (при запальній формі) або відсутність (при незапальній формі) лейкоцитів у секреті ПЗ за результатами світлової мікроскопії. Такий підхід передбачає, що в основі запальної форми лежить власне запалення, а незапальної – інші процеси. Відповідно застосовуються і лікувальні заходи.

Проте літературні дані вказують на те, що запальна реакція у ПЗ спостерігається в розвитку обох форм. Мова йде про гумо-

ральні імунні фактори, які не входять до стандартного обстеження пацієнтів.

**Мета дослідження:** вивчення ролі імунних показників у патогенезі ХАП для визначення нових диференційних ознак запальної та незапальної форм.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 42 хворих на ХАП. У контрольну групу увійшли 30 здорових чоловіків. Дослідження відповідає вимогам норм біоетики (протокол № 10 від 10.11.17 р. комісії з біоетики ДУ «Інститут урології НАМН України»).

Комплексне обстеження хворих включало клінічні, мікробіологічні, імунологічні та сперматологічні дослідження. У жодного з пацієнтів не спостерігалось відхилення показників статевих та гонадотропних гормонів.

Водночас в матеріалі сечівника у пацієнтів не були знайдені методом ПЛР інфекції, що передаються статевим шляхом (*Trichomonas vaginalis*, *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma spp.*, *Gardnerella vaginalis*). Культуральним методом в еякуляті також не була знайдена патогенна мікрофлора, а умовно-патогенна мікрофлора не перевищувала рівень  $1 \times 10^4$  КУО/мл.

Визначення вмісту цитокінів та SLPI в еякуляті та периферійній крові проведено імуноферментним методом на багатоканальному фотометрі «Sunrisi» № 1011006068 (Австрія) з використанням тест-систем «DRG» (США), Вектор Бест (Росія).

Статистичне оброблення результатів дослідження проводили за допомогою одно- та багаточисельного дисперсійного аналізу (програми «Microsoft Excel» і «MedStat» з урахуванням перевірки показників на нормальний розподіл).

Для порівняння кількісних показників незалежних груп у випадку нормального розподілу використовували критерій Стьюдента. Для порівняння двох залежних вибірок або за умов відсутності нормального розподілу у групах використовували непараметричний тест Уїлкоксона.

Кореляційні зв'язки оцінювали за допомогою критеріїв Пірсона та Кендала. Критерієм статистичної значущості був рівень  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Значення концентрації секреторного лейкопротеазного інгібітору (SLPI) в еякуляті та периферійній крові хворих у патогенезі запальної та незапальної форм ХАП**

Відомо, що SLPI постійно виробляються епітеліальними клітинами, нейтрофільними гранулоцитами і макрофагами для нейтралізації нейтрофільної еластази. Остання секретується активованими нейтрофільними гранулоцитами у відповідь на інфекційні агенти і належить до групи серинових протеаз. Нейтрофільна еластаза може виступати як протизапальний, так і прозапальний агент. Так, протизапальні ефекти нейтрофільної

Показники інгібітору секреторних лейкопротеаз у здорових чоловіків та хворих на ХАП

Статистичний показник	SLPI у чоловіків, пг/мл			
	здорових		хворих на ХАП	
	Сироватка	Еякулят	Сироватка	Еякулят
М	1148	1360	4602,7*	5342,5*
σ	233	238	1197,6	1546,3

Примітки: \* – різниця достовірна між показниками здорових чоловіків та хворих на ХАП (p<0,05).

еластази забезпечуються її літичною дією щодо цитокінів запалення (IL-1α, IL-2, IL-6, TNF-α). Фермент руйнує рецептори до LPS на CD14-клітинах, що призводить до зменшення експресії mIL-8 і i TNF-α у відповідь на стимуляцію LPS грамнегативних бактерій, за рахунок чого знижується запальна реакція на патогени [4, 6].

Однак нейтрофільна еластаза може посилювати запальні реакції. Наприклад, стимулювати продукцію IL-6 і IL-8, внаслідок чого збільшується міграція нейтрофільних гранулоцитів і формується тривале запалення [6]. У зв'язку з цим у хворих на ХАП було визначено особливості локальної та системної продукції SLPI.

Аналіз результатів визначення концентрації SLPI у периферійній крові та еякуляті здорових чоловіків контрольної групи та хворих на ХАП наведений у табл. 1.

За даними табл. 1, хронічне запалення ПЗ у хворих на ХАП супроводжується достовірним збільшенням у сироватці крові концентрації SLPI порівняно з даними здорових чоловіків (p<0,05); кореляційний зв'язок показників SLPI у периферійній крові та еякуляті відсутній (r=0; p=0,608). Статистично значущої різниці між показниками SLPI в еякуляті хворих запальної та незапальної форм ХАП не встановлено.

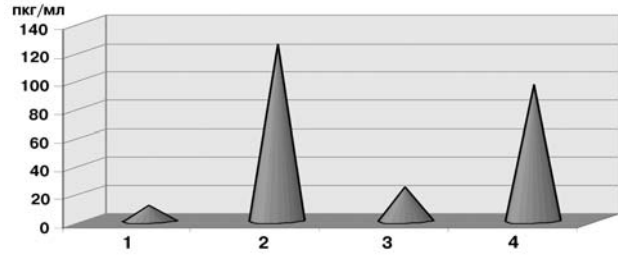
Відомо, що в нормі основними продуцентами SLPI в еякуляті є епітеліальні клітини протоків ПЗ [14, 19]. Показано прямиий ефект SLPI на індуковану LPS і ліпoteйхоєвою кислотою (ЛТК) екскрецію TNF-α; у свою чергу TNF-α збільшує екскрецію SLPI [13]. Отже, збільшена продукція SLPI в еякуляті може бути наслідком як неадекватної інгібіції нейтрофільної еластази, яка індукована LPS і ЛТК інфекційних агентів, так і високим вмістом TNF-α. Водночас аналіз даних свідчить, що рівень SLPI та TNF-α не мали статистично значущої кореляційної залежності (r=0; p>0,05).

Збільшення локальної продукції SLPI при хронічному абактеріальному запаленні ПЗ було розглянуто як показник активації епітеліальних клітин та моноцитів для захисту сперматозоїдів та забезпечення фертильності еякуляту як його основної функції шляхом обмеження запального процесу. Збільшення концентрації SLPI периферійної крові свідчить про залучення мукозального епітелію уrogenітального тракту в запальні реакції не тільки на локальному, але і на системному рівнях.

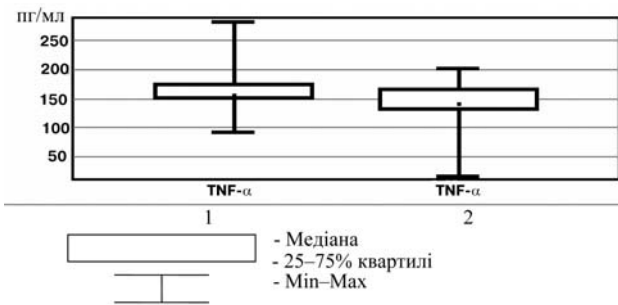
Отже, збільшення концентрації SLPI у сироватці плазми еякуляту та сироватці периферійної крові у хворих на ХАП може бути не тільки наслідком, але й важливою ланкою патогенезу, спільною для запальної та незапальної форм.

**Значення концентрації туморнекротичного фактора альфа (TNF-α) в еякуляті та периферійній крові хворих у диференційній діагностиці запальної та незапальної форм ХАП**

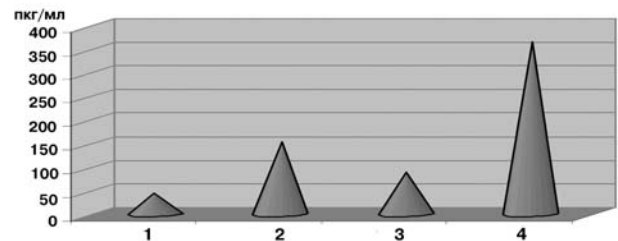
TNF-α належить до прозапальних цитокінів і йому відводиться головна роль у розвитку гострих та хронічних запальних захворювань. Прозапальний TNF-α продукується у відповідь на активацію всіх тринадцяти відомих на сьогодні TLR. Головним чином його синтезують, моноцити/макрофаги, крім того епітеліальні клітини ПЗ експресують mRNA-TNF-α.



Мал. 1. Концентрація TNF-α в еякуляті (2) і периферійній крові хворих на ХАП (4) і здорових чоловіків – 1 та 3 відповідно



Мал. 2. Графічне зображення медіани концентрації TNF-α у хворих на запальну (1) та незапальну (2) форми ХАП



Мал. 3. Концентрація IL-8 у периферійній крові (2) і еякуляті (4) у хворих на ХАП і здорових чоловіків (1 та 3)

Хронічне запалення ПЗ супроводжується достовірним збільшенням у сироватці плазми (120,3±15,4 пг/мл; p<0,01) порівняно із здоровими чоловіками концентрації TNF-α. У сироватці крові підвищення концентрації TNF-α було статистично підтверджено у 2/3 хворих і в середньому становило 87,4±11,3 пг/мл (p<0,05) (мал. 1).

Індивідуальний аналіз даних свідчить, що у хворих на ХАП рівень TNF-α у периферійній крові був у 1,2–2,3 разу меншим, ніж в еякуляті. Кореляційний зв'язок між рівнями TNF-α в еякуляті та периферійній крові (r=0; p>0,05) відсутній. Останнє свідчить про переважно локальне значення підвищеної продукції цитокіну.

Для визначення зв'язку локальної продукції TNF-α з формами ХАП провели порівняльний аналіз (мал. 2).

Збільшення продукції TNF- $\alpha$  в еякуляті у хворих із запальною формою ХАП більш виражено, ніж при незапальній формі, проте значущої різниці показників не знайдено ( $p=0,108$ ).

За даними літератури, TNF- $\alpha$  підтримує запальні реакції, а його збільшена продукція супроводжує інфекційні та аутоімунні захворювання. За наявності розсіяного склерозу навпаки виявлено протизапальний ефект TNF- $\alpha$ , пов'язаний із здатністю TNF- $\alpha$  викликати апоптоз нейтрофільних гранулоцитів – головних ефektorів запалення [3].

Відомо, що у клітині діють два основних механізми апоптозу. Зовнішній (залежний від рецепторів смерті, CD95), який починається з активації каспази 8, та внутрішній (мітохондріальний), який включає цитохром-с/Araf-1 – залежну збірку апоптосомі і активацію каспази 9. Враховуючи дані щодо дуже малої кількості мітохондріального цитохрому-С у нейтрофільних гранулоцитах важливо, що повна активація каспази-9 у мітохондріях спостерігається у нейтрофільних гранулоцитах після індукції TNF- $\alpha$  зовнішнього шляху клітинної загибелі, при цьому 70–80% клітин стають анексин-V-позитивними, але зберігають цілісність цитоплазматичної мембрани [4]. Отже, апоптоз нейтрофільних гранулоцитів, що ініціює TNF- $\alpha$  сім'яної плазми, також можна розглядати як один з механізмів контролю запальної реакції у хворих на ХАП.

#### **Значення концентрації інтерлейкіну 8 (IL-8) в еякуляті та периферійній крові хворих у диференційній діагностиці запальної та незапальної форм ХАП**

Відомо, що IL-8 є основним хемоатрактантом для нейтрофільних гранулоцитів, він не викликає продукцію інших прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1 та IL-6). Збільшення концентрації IL-8, насамперед, може бути пов'язано з присутністю недиагностованої інфекції у ПЗ і активністю еластази поліморфно-ядерних нейтрофільних гранулоцитів [6]. Встановлено, що концентрація IL-8 в еякуляті статистично значущо збільшувалась ( $p<0,05$ ) у хворих на ХАП в порівнянні зі здоровими донорами (мал. 3).

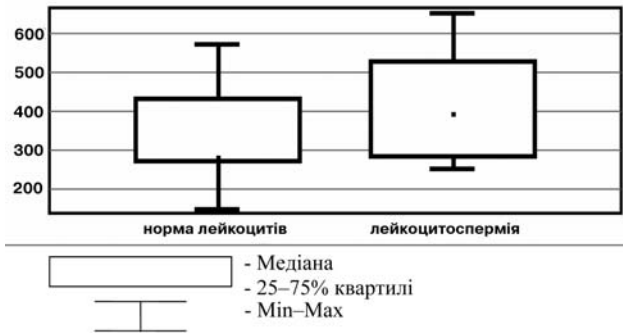
Показники прозапального цитокіну IL-8 в еякуляті були збільшені у всіх обстежених хворих на ХАП. У сироватці крові підвищення концентрації IL-8 було статистично підтверджено у 82% обстежених хворих – у середньому  $143,2\pm 24,2$  пг/мл ( $p<0,05$ ). Кореляційний зв'язок між рівнями IL-8 в еякуляті та периферійній крові ( $r=0$ ;  $p>0,05$ ) відсутній. Для з'ясування, чи пов'язаний рівень локальної продукції IL-8 з формою ХАП, був проведений порівняльний аналіз цих показників залежно від критичної ( $1\times 10^6$  ОД/мл) концентрації лейкоцитів в еякуляті (мал. 4).

Аналіз отриманих даних показав, що збільшення локальної продукції IL-8 в еякуляті у хворих із запальною формою ХАП більш виражено, ніж у хворих з незапальною формою ХАП, проте статистично значущої різниці між ними не виявлено ( $p=0,087$ ).

Складність трактування піоспермії, що спостерігається у хворих як при абактеріальному простатиті запальної (ХАП ША), так і при простатиті незапальної (ХАП ШВ) етіології є однією з проблем його діагностики [16]. У зв'язку з тим, що основною мішенню IL-8 є нейтрофільні гранулоцити, на які він діє як хемоатрактант і активатор, був проведений аналіз на взаємозалежність показників IL-8 та піоспермії в еякуляті хворих на ХАП.

Встановлено, що у хворих з лейкоцитоспермією рангова та лінійна кореляція між концентрацією IL-8 та кількістю лейкоцитів в еякуляті відсутня:  $rK=0$  ( $p>0,05$ );  $rP=0$  ( $p>0,05$ ).

Однак у хворих на незапальну форму ХАП існує рангова кореляція між показниками IL-8 та кількістю лейкоцитів еякуляту ( $rK=0,267$ ;  $p=0,04$ ). Лінійна кореляційна залежність між показниками IL-8 та кількістю лейкоцитів в еякуляті у хворих з нормальною кількістю лейкоцитів відсутня ( $rP=0$ ;  $p=0,402$ ).



**Мал. 4. Графічне зображення медіани концентрації IL-8 у хворих на запальну та незапальну форми ХАП**

Отже, на локальному рівні тільки при незапальній формі ХАП ці показники перебувають у кореляційному зв'язку, а кількість лейкоцитів в еякуляті не залежить від концентрації IL-8 ( $p>0,05$ ). Збільшення концентрації IL-8 в еякуляті відбувається не тільки у хворих на запальний ХАП, а й у хворих на незапальний ХАП.

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. Важливо, що ендотеліоцити також є продуцентами IL-8.

Моноцити експресують та секретують IL-8 у відповідь на прозапальні фактори: IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-7, IL-3, імунні комплекси та бактерії. За повної відсутності активуючих факторів моноцити не синтезують і не продукують IL-8 [5].

Епітеліальні клітини здорової ПЗ IL-8 – негативні [11]; IL-8 визначається в нормі та збільшується *in situ* при гіперплазії ПЗ [12]. У зв'язку з тим, що *in vitro* IL-8 діє як індуктор FGF-2 потужного фактора росту для простатичних стромальних клітин [1], автори дослідження вважають, що локальне посилення продукції IL-8 впливає на збільшення кількості стромальних клітин у ПЗ [12]. Вважаємо, що за відсутності лейкоцитарної реакції в еякуляті та сироватці крові, збільшення локальної продукції прозапального IL-8 є показником активації функціонального стану цих клітин-продуцентів IL-8 та залучення їх у патологічний процес.

Отже, у хворих на ХАП збільшення концентрації IL-8 спостерігається на локальному та системному рівнях. При запальній формі ХАП лейкоцитоспермія кореляційно не пов'язана з концентрацією IL-8. При незапальній формі ХАП рівні IL-8 та лейкоцитів кореляційно взаємопов'язані. За результатами лінійного регресійного аналізу кількості лейкоцитів в еякуляті не залежить від концентрації IL-8 ( $p>0,05$ ).

Враховуючи літературні дані, вважаємо, що порушення зв'язку між кількістю нейтрофільних гранулоцитів та концентрацією IL-8 в еякуляті у хворих з лейкоцитоспермією, насамперед, може бути пов'язаний з апоптозом нейтрофільних гранулоцитів під впливом TNF- $\alpha$ . Також встановлено, що значення коефіцієнтів парної кореляції ( $r$ ) Кендала (К) для показників TNF- $\alpha$  і IL-8 в еякуляті хворих на ХАП достовірно відрізняються від 0 ( $p<0,05$ ), що свідчить про існування між ними прямого кореляційного зв'язку.

Виходячи з припущення, що між цими показниками існує лінійна залежність, достовірність зв'язку показників TNF- $\alpha$  і IL-8 була оцінена методом регресійного аналізу. Показники IL-8 були включені у модель в якості залежної змінної, а TNF- $\alpha$  – незалежної (визначаючої).

Була виявлена статистично достовірна залежність концентрацій IL-8 і TNF- $\alpha$  в еякуляті хворих на ХАП. Більше того, аналіз даних показав зв'язок між цими показниками середньої сили ( $r=0,419$ ;  $p=0,014$ ).

Для аналізу адекватності моделі була оцінена різниця фактичного значення ознаки та її теоретичного значення, що було розраховано в межах побудованої моделі.

За результатами математичного аналізу встановлено існування лінійного кореляційного зв'язку між залишками та результуючою ознакою. Побудована лінійна модель не повністю описує залежність між цими двома ознаками, і на кожний з цих показників ще впливають додаткові фактори, які не увійшли у аналіз.

**Значення концентрації інтерлейкіну 6 (IL-6) в еякуляті та периферійній крові хворих у диференційній діагностиці запальної та незапальної форм ХАП**

Відомо, що секреція IL-6 забезпечується різними типами клітин – макрофагами, Т- і В-лімфоцитами, фібробластними, ендотеліальними клітинами. IL-6 є цитокіном, що завершує розвиток запальної реакції, оскільки притягує продукцію IL-1 та TNF- $\alpha$ . У поєднанні з іншими факторами цей інтерлейкін посилює проліферацію юних форм CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> – тимоцитів. Діючи на зрілі Т-клітини, IL-6 посилює активацію CD4<sup>+</sup> та CD8<sup>+</sup> клітин та диференціацію цитотоксичних Т-лімфоцитів [9].

У ПЗ секреція IL-6 забезпечується як нормальними, так і злоякісно-трансформованими епітеліальними клітинами. IL-6 може діяти як фактор росту для нормальних епітеліальних та ракових клітин: концентрація IL-6 збільшена (~18 разів) у ракових новоутвореннях ПЗ порівняно з нормою [8].

Отримані дані свідчать, що у хворих на ХАП відбувається значуще збільшення у сім'яній плазмі концентрації IL-6 (191,3±18,3 пг/мл) порівняно з даними здорових чоловіків (p<0,01) (мал. 5).

Рівень IL-6 у периферійній крові хворих на ХАП у середньому становив 51,9±5,2 пг/мл та не відрізнявся від показників здорових донорів (p>0,05).

Отже, абактеріальне запалення ПЗ супроводжується активацією клітин, що синтезують IL-6 в еякуляті, однак на системному рівні продукція IL-6 залишається незмінною.

З метою визначення, чи пов'язана локальна продукція IL-6 з формою ХАП, далі був проведений порівняльний аналіз цих показників (мал. 6). Аналіз результатів дослідження дозволив виявити, що концентрація IL-6 в еякуляті хворих на запальну форму ХАП більша, ніж у хворих з незапальною формою ХАП (p=0,010).

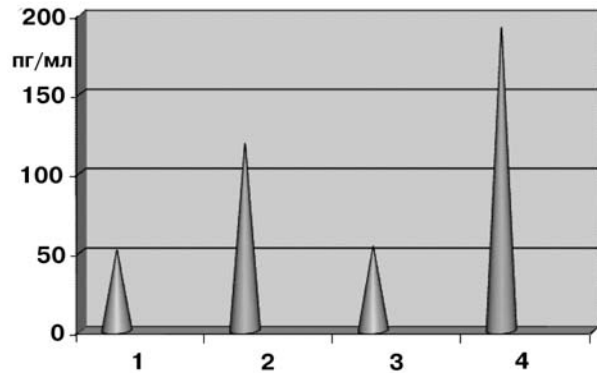
Разом із цим, перевірка даних на кореляційний зв'язок між концентрацією IL-6 та кількістю лейкоцитів в еякуляті показала відсутність лінійної (rP=0; p>0,05) та рангової (rK=0, p>0,05) залежності цих показників при запальній формі ХАП, а також при незапальній формі ХАП відповідно (rP=0; p>0,05) (rK=0; p>0,05). Важливо, що при цьому існує міцна взаємозалежність між зміною концентрацій IL-6 та IL-8 в еякуляті (rK=0,67).

Виходячи з припущення, що між цими показниками існує лінійна залежність, достовірність зв'язку показників IL-6 та IL-8 була оцінена методом регресійного аналізу. Показники IL-6 були включені у модель в якості залежної змінної, а IL-8 – незалежної. За даними результатами регресійного аналізу встановлено, що між концентраціями IL-8 і IL-6 є лінійна кореляційна залежність.

Для аналізу адекватності моделі був проведений аналіз залишків – різниці фактичного значення ознаки і його теоретичного значення, який був розрахований у межах побудованої моделі.

Встановлено, що існує лінійний кореляційний зв'язок між залишками та результуючою ознакою. Це означає, що побудована лінійна модель не повністю описує залежність між цими двома ознаками, і на кожний з цих показників впливають додаткові фактори, які не увійшли в аналіз.

Однак проведений аналіз показав, що, на відміну від IL-8, для якого встановлений кореляційний зв'язок з TNF- $\alpha$ , зміни концентрацій IL-6 та TNF- $\alpha$  в еякуляті кореляційно не взаємопов'язані (r=0, p>0,05).



Мал. 5. Рівень IL-6 периферійної крові (2) і еякуляту (4) у хворих на ХАП порівняно з цими показниками у здорових чоловіків (1 та 3 відповідно)



Мал. 6. Графічне зображення медіани концентрації IL-6 у хворих на запальну та незапальну форми ХАП

Отже, хронічне абактеріальне запалення ПЗ супроводжується активацією клітин, що синтезують IL-6 в еякуляті, проте на системному рівні продукція IL-6 залишається незмінною. У хворих на ХАП існує міцний прямий взаємозалежний зв'язок між зміною концентрацій IL-6 та IL-8 в еякуляті. Підвищений рівень IL-6 кореляційно не пов'язаний з формою ХАП та TNF- $\alpha$ .

**Значення концентрації інтерлейкіну 17 (IL-17), інтерлейкіну 23 (IL-23) та трансформуючого фактора росту бета1 (TGF- $\beta$ 1) в еякуляті та периферійній крові хворих у диференційній діагностиці запальної та незапальної форм ХАП**

Хронічне запалення ПЗ супроводжується інфільтрацією стромальних та епідермальних клітин CD8, Th1, Th2, Th17, В-клітинами та макрофагами за участю цитокінів; активація цих клітин проходить на системному рівні. Присутність TRL на Treg- та Th-клітинах уможливило їхню участь у формуванні запалення ПЗ при активації на локальному рівні [8].

З'ясовано, що дія активованих (адаптивних) Treg клітин опосередкована через секрецію TGF- $\beta$  та IL-10 [7], а концентрація антигену для активації супресорної функції Treg-клітин менша за ту, що необхідна для проліферації Т-лімфоцитів [21]. Вважається, що Treg-клітини контролюють праймінг CD8 Т-лімфоцитів на рівні експансії Т-лімфоцитів та запобігають виникненню аутоімунної відповіді за рахунок блокади автореактивних Т-лімфоцитів [10]. Показано, що завдяки TGF- $\beta$ 1, Treg-клітини не тільки контролюють імунологічну толерантність до власних антигенів, але і регулюють імунну відповідь до чужорідних, насамперед, інфекційних, у тому числі втручаються у функціонування Th17. Механізм такої регуляції остаточно не визначений.

Встановлено, що диференціація Th17 з наївних CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцитів потребує декілька етапів. На першому, під впли-



Показники TGF-β1, IL-17, IL-23 у сім'яній плазмі хворих на ХАП

Показник	Позитивні еякуляти, %	Медіана/25 кuartиль: 75 кuartиль, пг/мл	Похибка медіани	95% ДІ лівий	95% ДІ правий
IL-17	100	15,3/9,2 : 23,7	2,4	10,5	21,1
IL-23	100	7,9/3,7 : 18,5	2,1	4,4	13,6
TGF-β1(1:5)	100	*95,5/92,4 : 103,2	4,1	93,2	100,5

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

вом TGF-β, IL-6 та IL-1 наївні CD4<sup>+</sup> Т-лімфоцити починають експресувати транскрипційний RORγ (чи RORc) та перетворюються на клітини-попередники Т-хелперів 17. Далі під впливом IL-21 і, особливо, IL-23, вони дозрівають в Th17, які продукують IL-17 та інші прозапальні цитокіни: TNF-α, IL-6, IL-8, IL-23, MCP-1, MIP-2. In vitro IL-17 стимулює експресію mRNA та продукцію IL-6 (у 13 разів), IL-8 (у 26 разів), IL-1α та IL-1β.

Важливо, що стимуловальний ефект IL-17 на продукцію прозапальних цитокінів у ПЗ у декілька разів більший, ніж під впливом LPS. Проте, in situ кількість mRNA IL-17 не корелює з кількістю mRNA IL-6 та IL-8 [23]. Вагомим є виявлення потенційних зв'язків Treg- і Th17-клітин як важливих складових імунопатологічного процесу при хронічному простатиті.

Далі наведений аналіз даних щодо визначення продукції IL-17, IL-23 та TGF-β1 у сім'яній плазмі еякуляту хворих на ХАП (табл. 2).

Аналіз даних довів, що концентрація IL-17 у сім'яній плазмі хворих на ХАП дорівнювала 15,3/9,2 : 23,7 пг/мл; за середніми даними достовірної різниці порівняно із здоровими чоловіками (11,6/0 : 21,8) не встановлено.

З метою визначення, чи пов'язана локальна продукція IL-17 з формою ХАП, був проведений порівняльний аналіз цих показників (мал. 7).

Порівняльний аналіз показників IL-17 в еякуляті показав, що в групах пацієнтів з запальною та незапальною формами ХАП різниця не є статистично значущою (p>0,05). Концентрація IL-17 у периферійній крові також не змінювалась (p>0,05).

Аналіз даних на кореляційний зв'язок кількості форми ХАП з концентрацією IL-17 довів відсутність лінійної (rP=0) та рангової (rK=0) залежності цих показників у хворих із запальною та незапальною формою ХАП (p>0,05). За даними сучасної літератури, IL-17 грає важливу роль у захисті макроорганізму, насамперед, від тих патогенів, проти яких малоефективні клітини, які продукують TNF-α. Вважається, що за участю IL-17 імунна система спонукає епітеліальні клітини до більш енергійної відповіді на вторинний стимул – TNF-α [24].

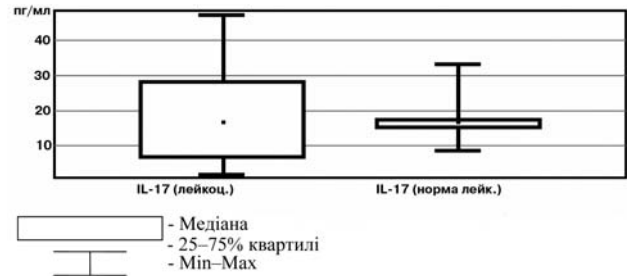
Відомо, що в нормі у ПЗ прозапальний IL-17 експресується слабо [23]. Можна припустити, що відсутність у більшій частині хворих на ХАП «необхідності» в локальній продукції IL-17 на тлі високої активності клітин, які продукують TNF-α, є свідченням активації епітеліальних клітин ПЗ.

Далі були проаналізовані показники IL-23 в еякуляті та периферійній крові хворих на ХАП.

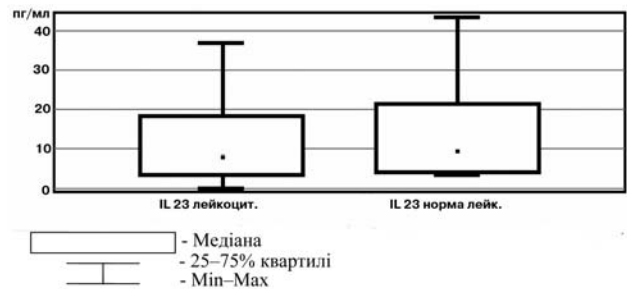
Відомо, що продукція IL-23 стимулюється через стимуляцію TLR на дендритних клітинах і CD14<sup>+</sup>-макрофагах. Також продукція IL-23 забезпечується Th1 і Th17. Якщо Т-лімфоцити отримали сигнал від IL-23, знижується диференціація Treg-клітин [25].

Графічне зображення результатів аналізу отриманих даних концентрації IL-23 у хворих на запальну та незапальну форми ХАП наведені на мал. 8.

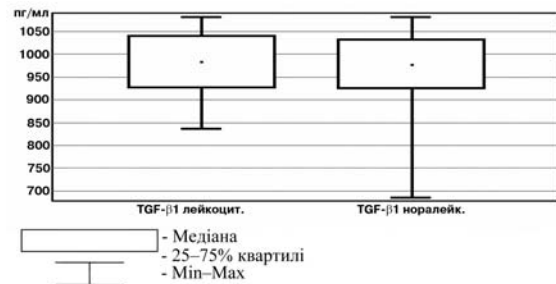
Встановлено, що концентрація IL-23 у сім'яній плазмі хворих на ХАП дорівнювала 7,9/3,7 : 18,5 пг/мл. За середніми даними значущої різниці порівняно зі здоровими чоловіками



Мал. 7. Графічне зображення медіани концентрації IL-17 у хворих на запальну та незапальну форми ХАП



Мал. 8. Графічне зображення медіани концентрації IL-23 у хворих на запальну та незапальну форми ХАП



Мал. 9. Графічне зображення медіани концентрації TGF-β1 у хворих на запальну та незапальну форми ХАП

(8,8/4,5 : 15,0) не встановлено (p>0,05). У периферійній крові хворих на ХАП концентрація IL-23 була не зміненою (p>0,05).

Наступним було проаналізовано показники TGF-β1 в еякуляті та периферійній крові хворих на ХАП порівняно зі здоровими чоловіками. Для порівняння дисперсій рівня TGF-β1 у контрольній групі пацієнтів і в групі хворих на ХАП використовували критерій Фішера.

Встановлено, що концентрація TGF-β1 у сім'яній плазмі хворих на ХАП була достовірно зниженою (p=0,01). У периферійній крові хворих на ХАП концентрація TGF-β1 була не зміненою (p<0,01). З метою визначення, чи пов'язана локальна продукція TGF-β1 з лейкоцитоспермією, далі був проведе-

ний порівняльний аналіз концентрації показників у хворих на запальну та незапальну форми ХАП (мал. 9).

Перевірка даних на кореляційний зв'язок між показниками кількості лейкоцитів з концентрацією TGF- $\beta$ 1 свідчить, що за відсутності лінійного кореляційного зв'язку ( $rP=0$ ;  $p=0,068$ ) у хворих на запальну ХАП існує рангова ( $rK=-0,545$ ,  $p=0,03$ ) зворотна кореляція між цими показниками.

У хворих з незапальним ХАП взаємного кореляційного зв'язку між кількістю лейкоцитів в еякуляті та концентрацією TGF- $\beta$ 1 не встановлено ( $p>0,05$ ).

Відомо, що ліганди TLR, що стимулюють секрецію TGF- $\beta$ , IL-6 та IL-23, активують IL17-продукувальні Th17-клітини [23]. Тому далі наведені результати дослідження потенційних зв'язків між цитокінами, що вивчалися, як складових імунопатологічного процесу при хронічному простатиті за участю Treg- і Th17-клітин та цитокинів, що впливають на їхню функцію. Достовірність зв'язку показників була оцінена методом регресійного аналізу.

Встановлено відсутність статистично вірогідної кореляційної залежності між концентраціями IL-6, IL-17 і TGF- $\beta$  еякуляті хворих на ХАП ( $r=0$ ;  $p>0,05$ ). Проте існує значуща пряма лінійна кореляційна залежність між концентраціями IL-17 та IL-23 в еякуляті хворих ( $rP=0,740$ ;  $p<0,01$ ).

Достовірність зв'язку показників IL-17 і IL-23 була оцінена методом регресійного аналізу.

Для аналізу адекватності моделі був проведений аналіз залишків – різниці фактичного значення ознаки і його теоретичного значення, який був розрахований у межах побудованої моделі. Показники IL-17 були включені у модель в якості залежної змінної, а IL-23 – незалежних (визначаючих).

Встановлено існування лінійного кореляційного зв'язку між залишками та результуючою ознакою. Побудована лінійна модель не повністю описує залежність між цими двома ознаками, і на кожний з цих показників впливають додаткові фактори, які не увійшли в аналіз.

Отже, аналіз отриманих даних показав, що локальна продукція прозапальних IL-6, IL-17, IL-23 корелятивно не пов'язана з формою ХАП.

Проте існування міцного ( $rP=0,740$ ) прямого лінійно кореляційного зв'язку концентрацій IL-17 і IL-23 та зворотного рангового кореляційного зв'язку між TGF- $\beta$  і лейкоцитами дозволяє стверджувати, що субпопуляції Th17- та Treg-клітин є учасниками імунопатологічного процесу у ПЗ.

Співставлення отриманих результатів з даними наукової літератури щодо взаємозв'язку біологічних ефектів IL-6, IL-17, IL-23 та TGF- $\beta$  за участю клітин, що їх продукують, дає підставу вважати, що активовані Th17 можуть включатися в імунопатогенез хронічного абактеріального запалення ПЗ, у тому числі за участю Treg-клітин контролювати імунологічну толерантність до власних антигенів.

### Иммунные факторы в патогенезе воспалительной и невоспалительной форм хронического абактериального простатита

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

Особенности патогенеза воспалительной и невоспалительной форм хронического абактериального простатита (ХАП) – предмет современной научной дискуссии.

**Цель исследования:** изучение роли иммунных показателей в патогенезе ХАП для выявления новых дифференциальных признаков воспалительной и невоспалительной форм.

**Материалы и методы.** Обследованы 42 больных ХАП. В контрольную группу вошли 30 здоровых мужчин. Определение продукции цитокинов в крови и эякуляте проведено иммуоферментным методом на фотометре «Sunrise» (Австрия).

**Результаты.** Установлено, что хроническое абактериальное воспа-

вление предстательной железы сопровождается достоверным увеличением в семенной плазме та сыворотке крови концентрации SLPI, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-17 и снижением концентрации IL-6 та TGF- $\beta$ 1 по сравнению с данными здоровых мужчин ( $p<0,05$ ). Статистически значимой разницы между показателями SLPI, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-23, IL-17, TGF- $\beta$ 1 в эякуляте больных воспалительной и невоспалительной формами ХАП не выявлено ( $p<0,05$ ). Концентрация IL-6 в эякуляте больных воспалительной формой ХАП значимо больше, чем у больных невоспалительной формой ХАП ( $p=0,010$ ).

Отже, у хворих на ХАП локальна продукція прозапальних IL-17, IL-23 корелятивно не пов'язана з формою ХАП. Проте існування міцної прямої лінійної кореляційної залежності концентрацій IL-17 і IL-23 та зворотної рангової кореляційної залежності між TGF- $\beta$ 1 і лейкоцитами дозволяє вважати, що субпопуляції Th17 та Treg є учасниками імунопатологічного процесу у ПЗ.

### ВИСНОВКИ

Значенню хронічного абактеріального простатиту (ХАП) приділяється все більше уваги у клінічних та фундаментальних дослідженнях. Ефективне лікування ХАП, а також коморбідної патології ґрунтується на розумінні його патогенезу, зокрема, нейроімунної взаємодії [2]. Саме імунні чинники були досліджені під час пошуку диференційних ознак запальної та незапальної форм ХАП.

Хронічне абактеріальне запалення передміхурової залози (ПЗ) супроводжується достовірним збільшенням у сім'яній плазмі та сироватці крові концентрації SLPI, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-17 та зниженням концентрації IL-6 та TGF- $\beta$ 1 порівняно з даними здорових чоловіків ( $p<0,05$ ). Статистично значущої різниці між показниками SLPI, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-23, IL-17, TGF- $\beta$ 1 в еякуляті хворих запальної та незапальної форм ХАП не встановлено ( $p<0,05$ ). Концентрація IL-6 в еякуляті хворих на запальну форму ХАП більша, ніж у хворих з незапальною формою ХАП ( $p=0,010$ ).

Виявлене зменшення продукції IL-6, а також значуща різниця концентрації при різних формах ХАП/СХТБ може бути пояснена різним ступенем активності TLR 2-го та 4-го типу [15], збільшеною продукцією IL-4 [20] та невиявленою інфекцією передміхурової залози [22]. Проте виявлена різниця недостатня для практичного використання та не змінює в цілому запальної природи ХАП/СХТБ.

Отже, отримані результати вказують на запальну природу обох форм ХАП/СХТБ. На користь цього свідчить посилена продукція більшості досліджених прозапальних імунних факторів при ХАП/ синдромі хронічного тазового болю (СХТБ) та відсутність статистично значущої різниці показників при запальній та незапальній формах. Тому, на нашу думку, більше відповідає патогенезу та лабораторній картині назва форм ХАП/СХТБ лейкоцитарна та безлейкоцитарна.

Воспалительная и невоспалительная формы ХАП патогенетически близки относительно изменений концентрации изученных цитокинов за исключением IL-6. При наличии двух форм присутствуют признаки воспаления. В связи с этим предлагается использовать термины «лейкоцитарный» та «безлейкоцитарный» ХАП.

**Заключение.** Воспалительная и невоспалительная формы ХАП патогенетически близки относительно изменений концентрации изученных цитокинов за исключением IL-6. При наличии двух форм присутствуют признаки воспаления. В связи с этим предлагается использовать термины «лейкоцитарный» та «безлейкоцитарный» ХАП.

**Ключевые слова:** хронический абактериальный простатит, цитокины, лейкоцитарный хронический абактериальный простатит, безлейкоцитарный хронический абактериальный простатит.

**Immune factors in the pathogenesis of inflammatory and non-inflammatory forms of chronic abacterial prostatitis**

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

Features of the pathogenesis of inflammatory and non-inflammatory forms of chronic abacterial prostatitis (CAP) – the subject of modern scientific discussion.

**The objective:** to study the role of immune parameters in the pathogenesis of CAP to identify new differential signs of inflammatory and non-inflammatory forms of forms.

**Materials and methods.** 42 patients with chronic abacterial prostatitis were examined. 30 healthy men made up a control group. The production of cytokines in the blood and ejaculate was determined by an enzyme immunoassay.

**Results.** It has been established that chronic abacterial inflammation

of the prostate gland is accompanied by a significant increase in the serum concentration of SLPI, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-17 in the seminal plasma and serum concentration, and a decrease in the concentration of IL-6 and TGF- $\beta$ 1 compared to healthy men ( $p < 0.05$ ). There was no statistically significant difference between SLPI, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-23, IL-17, and TGF- $\beta$ 1 in the ejaculate of patients with inflammatory and non-inflammatory forms of CAP ( $p < 0.05$ ). The concentration of IL-6 in ejaculate in patients with inflammatory form of CAP is significantly greater than in patients with inflammatory form of CAP ( $p = 0.010$ ).

**Conclusions.** The inflammatory and non-inflammatory forms of CAP are pathogenetically similar to changes in the concentration of the studied cytokines except for IL-6. In both forms there are signs of inflammation. In this connection, it is proposed to use the terms «leukocytic» and «nonleukocytic» CAP.

**Key words:** chronic abacterial prostatitis, cytokines, leukocytic form, nonleukocytic form.

**Сведения об авторах**

**Горпинченко Игорь Иванович** – ГУ «Институт урологии НАМН Украины», 04053, г. Киев, ул. В. Винниченко, 9а.  
E-mail: [sexology@sexology.kiev.ua](mailto:sexology@sexology.kiev.ua)

**Нуриманов Камил Раисович** – ГУ «Институт урологии НАМН Украины», 04053, г. Киев, ул. В. Винниченко, 9а  
**Савченко Виктория Станиславовна** – ГУ «Институт урологии НАМН Украины», 04053, г. Киев, ул. В. Винниченко, 9а  
**Порошина Татьяна Викторовна** – ГУ «Институт урологии НАМН Украины», 04053, г. Киев, ул. В. Винниченко, 9а  
**Дранник Георгий Николаевич** – ГУ «Институт урологии НАМН Украины», 04053, г. Киев, ул. В. Винниченко, 9а

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

- Брагина Е.Е. Руководство по сперматологии / Е.Е. Брагина, Р.А. Абдумаликов. – М.: СОРЕК-полиграфия, 2002.
- Горпинченко І.І., Нуріманов К.Р., Савченко В.С., Порошина Т.В., Недогонова О.А., Драннік Г.М. Комбіноване лікування хворих на хронічний абактеріальний простатит з депресивним синдромом. // Здоровье мужчины. – 2016. – № 3 (58). – С. 69–73.
- Маянский Н.А., Росс Д., Кайперс Т. Каспазозависимый путь клеточной гибели нейтрофилов, индуцированной TNF- $\alpha$  / Н.А. Маянский, Д. Росс, Т. Кайперс // Цитокины и воспаление. – 2003. – № 1. – С. 29–35.
- Маянский А.Н. Цитокины и медиаторные функции уроэпителия в воспалительных реакциях мочевого пузыря / А.Н. Маянский // Цитокины и воспаление. – 2003. – № 3. – С. 15–18. 4.
- Симбирцев А.С. Интерлейкин-8 и другие хемокины / А.С. Симбирцев // Иммунология. – 1999. – № 4. – С. 9–14.
- Тотолян А.А. Роль хемокинов и их рецепторов в иммунорегуляции / А.А. Тотолян // Иммунология. – 2001. – № 5. – С. 7–15.
- Фрейдлин И.С. Регуляторные Т-клетки: происхождение и функции / И.С. Фрейдлин // Мед. иммунология. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 347–354.
- 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.
- Aitken R.J. Oxidative stress in the male germ line and its role in the aetiology of male infertility and genetic disease // R.J. Aitken, M.A. Baker, D. Sawyer // *Reprod. BioMed. Online.* – 2003. – V. 7. – P. 65–70.
- Chappert P. Antigen-specific Tregs impair CD8 T cell priming by blocking early T cell expansion / P. Chappert, M. Leboeuf, P. Rameau [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2009. Epub ahead of print.
- Ferrer F.A. Angiogenesis and prostate cancer: in vivo / F.A. Ferrer, L.J. Miller, R.I. Andrawis [et al.] // *Urology.* – 1998. – V. 51. – P. 161–167.
- 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.
- 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.
- 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.
- Han I.H., Kim J.H., Kim S.S., Ahn M.H., Ryu J.S. Signalling pathways associated with IL-6 production and epithelial-mesenchymal transition induction in prostate epithelial cells stimulated with *Trichomonas vaginalis* // *Parasite Immunol.* – 2016. – N 38 (11). – P. 678–687.
- Krieger N. Seminal fluid fundings in men with nonbacterial prostatitis and prostatodynia / N. Krieger, R.E. Berger, S.O. Ross [et al.] // *Andrologia* – 1996. – V. 17. – P. 310–318.
- 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. – V. 95. – P. 15809–15814.
- Ochsenkuhn R. The relationship between immunosuppressive activity and immunoregulatory cytokines in seminal plasma: influence of sperm autoimmunity and seminal leukocytes / R. Ochsenkuhn, A.E. O'Connor, J.J. Hirst [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* – 2006. – V. 71. – P. 57–74.
- Ohlson K. SLPI in the male genital tract: PSA – induced proteolytic processing in human semen and tissue localization / K. Ohlson, A. Byartell, H. Lilia // *J. Andrology.* – 1995. – V. 16. – P. 64–74.
- Perez-Alvarado C., Gomez C., Reyes M., Gargna M., Perez E, Perez de la Mora C, Sanchez V., and Guillermo Perez Ishiwara D. Anti-Inflammatory Effect of Dialyzable Leukocyte Extract in Autoimmune Prostatitis: Evaluation in Animal Model // *Biomed. Res. Int.* 2017; 2017: 1832853. Published online 2017 Mar 12.
- Setiady Y.Y. Physiologic self antigens rapidly capacitate autoimmune disease-specific polyclonal CD4+ CD25+ regulatory T cells / Y.Y. Setiady // *Blood.* – 2006. – V. 107. – P. 1056–1062.
- Stancik I., Plas E., Juza J., Pfluger H. Effect of antibiotic therapy on interleukin-6 in fresh semen and post-masturbation urine samples of patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome // *Urology.* – 2008. – № 72 (2). – P. 336–339.
- Steiner G.E. Expression and function of pro-inflammatory interleukin IL-17 and IL-17 receptor in normal, benign hyperplastic and malignant prostate / G.E. Steiner, M.E. Newman, D. Paikl [et al.] // *Prostate.* – 2003. – V. 56. – P. 171–182.
- van den Berg A. Interleukin-17 Induces Hyperresponsive Interleukin-8 and Interleukin-6 Production to Tumor Necrosis Factor in Structural Lung Cells / A. van den Berg, M. Kuiper, M. Snoek [et al.] // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology.* – 2005. – V. 33. – P. 97–104.
- Zaloy K.J. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease / K.J. Maloy, F. Powrie // *Nature.* – 2011. – 16 June. – V. 474. – P. 298–306.

Статья поступила в редакцию 21.12.17