

## КОМПОНЕНТЫ И МЕХАНИЗМЫ ИММУНОКОРРЕКЦИИ У ЛЕЧЕНЫХ ОТ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ МУЖЧИН ЦИТОКИНАМИ

Нагаева В.В.<sup>1</sup>, Елисеев Е.В.<sup>2</sup>, Кокорева Е.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Центральная медико-санитарная часть № 15 Федерального медико-биологического агентства», Снежинск, Челябинская область, Россия, e-mail: salage@bk.ru

<sup>2</sup> ФГБОУ ВПО «Уральский государственный университет физической культуры», Челябинск, Россия, e-mail: salage@bk.ru

---

Проведено сравнение резистентности репродуктивного тракта здоровых мужчин с вариативностью местного иммунитета уrogenитального тракта мужчин при генитальных инфекциях различной этиологии. Изучение иммунологических функций защитной деятельности организма позволяет описать механизмы иммунокоррекции иммунного ответа репродуктивного тракта мужчин при лечении их беталейкином и ронколейкином от уrogenитальных инфекций различной этиологии. Достоверный эффект применения цитокинов показывает беталейкин, в связи с чем, использование ИЛ-1 максимально повышает эффективность лечения мужчин цитокинами от уrogenитальных инфекций различной этиологии. Беталейкин способствует достоверно значимому, относительно динамики группы контроля и группы, леченных ронколейкином, нарастанию количества лейкоцитов и лимфоцитов, снижению абсолютного и относительного количества моноцитов, нейтрофилов, увеличению активности, интенсивности фагоцитоза и функционального резерва нейтрофилов.

Ключевые слова: цитокины, механизмы иммунокоррекции, лечение мужчин, уrogenитальные инфекции различной этиологии.

## COMPONENTS AND MECHANISMS IMMUNOCORRECTION AT MEN TREATMENT FOR UROGENITAL INFECTIONS CYTOKINES

Nagaeva V.V.<sup>1</sup>, Eliseev E.V.<sup>2</sup>, Kokoreva E.G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Central Health Part 15 of the Federal Medical-Biological Agency, Snezhinsk, Chelyabinsk region, Russia, e-mail: salage@bk.ru

<sup>2</sup>Ural State University of Physical Culture, Chelyabinsk, Russia, e-mail: salage@bk.ru

---

The comparison of the resistance of the reproductive tract of healthy men from the variability of local immunity in the genital tract of men genital infections of various etiologies. The study of protective immunological functions of the organism allows us to describe the mechanisms of immune response of the reproductive tract in the treatment of men and their Betaleukin ronkoleukine of urogenital infections of various etiologies. Reliable effect of cytokines shows Betaleukin, and therefore, the use of IL-1 maximizes the effectiveness of the treatment of men with cytokines from urogenital infections of various etiologies. Betaleukin contributes significantly meaningful regarding the dynamics of the control group and the group treated ronkoleukine, increase of the number of leukocytes and lymphocytes, a decrease of the absolute and relative number of monocytes, neutrophils, the increase in activity, the intensity of phagocytosis and neutrophil functional reserve.

Keywords: cytokines, mechanisms of immunocorrection, treatment of men, urogenital infections of various etiologies.

Современные научные данные все чаще подчеркивают факт, что при широком выборе применяемых антибактериальных средств в лечении мужчин от воспалительных заболеваний половой системы, проблема адекватного лечения хронического уретрита и простатита остается весьма актуальной [1, 2, 5]. Во-первых, потому, что эти хронические воспалительные заболевания мочеполовой системы являются наиболее частыми в структуре общей патологии у мужчин [7]. Во-вторых, исследуемая нами статистика свидетельствует о том, что данными воспалительными заболеваниями репродуктивного тракта чаще болеют

мужчины молодого возраста, при этом болезнь приобретает у них затяжной характер и способствует нарушению репродуктивной функции, снижению трудоспособности [8]. И в-третьих, как показала практика, использование антибактериальных препаратов при воспалительных заболеваниях половой системы мужчин во многих случаях оказывается малоэффективным и не ведет к нормализации естественного течения иммунного ответа организма на урогенитальную инфекцию [9].

Постоянно растущие методические возможности изучения локальных факторов антимикробной защиты современной иммунологической лаборатории позволяют все точнее и существеннее дополнять представления об иммунопатологии половой системы мужчин при воспалительных заболеваниях различной этиологии. Однако до сих пор не до конца понятны локальные механизмы антимикробной защиты половой системы у мужчин, их взаимосвязи с состоянием иммунной системы организма в целом, структурный портрет иммунодефицита в развитии хронических воспалительных заболеваний урогенитальной системы мужчин. В связи с этим считаем изучение структурно-функциональных компонентов и механизмов иммунокоррекции при лечении мужчин циклофероном и цитокинами от урогенитальных инфекций различной этиологии *актуальным* и *своевременным*. Цель исследования – сравнивая резистентность репродуктивного тракта здоровых мужчин с вариативностью местного иммунитета урогенитального тракта мужчин при генитальных инфекциях различной этиологии:

- выявить иммунологические функции защитной деятельности организма в свете иммунорегуляции местных механизмов антимикробной защиты половой системы больных с хроническими уретритами и простатитами различной этиологии;

- описать физиологические механизмы регуляции иммунного ответа репродуктивного тракта мужчин и профилактику у них вторичных иммунодефицитов в свете сравнительной характеристики клинической эффективности беталейкина и ронколейкина относительно циклоферона.

**Организация и методы исследования.** В констатирующей части исследования были организованы и проведены обследования 216 человек, среди которых больные хроническим уретритом (n=77) и простатитом (n=82) и 57 здоровых доноров. Возраст обследованных мужчин колебался от 20 до 58 лет, составив в среднем  $27,6 \pm 0,4$  года. В формирующей части работы в 1-ую (контрольную) группу (n=60) вошли респонденты, в основе лечения которых лежало применение циклоферона по известным и широко описанным в современной литературе методикам [13]. Состав 1-ой группы выглядел следующим образом: больные хроническим уретритом (n=26) и простатитом (n=18). Экспериментальными группами являлись 2-я и 3-я группы. Во 2-ой группе (n=61) основу лечения составляло применение

ронколейкина. В 3-ей (n=58) – беталейкина. Состав 2-ой группы выглядел так: больные хроническим уретритом (n=25) и простатитом (n=19); 3-ей группы – так: больные хроническим уретритом (n=23) и простатитом (n=17). Способ лечения больных 2-ой и 3-ей групп основывался на авторских методиках, описанных ниже.

У всех больных имелись воспалительные заболевания мужских половых органов, которые относились к соответствующей группе урологических заболеваний по Международной классификации болезней Десятого пересмотра. Диагнозы заболеваний были выставлены на основании клинических, лабораторных, инструментальных и других, необходимых для этого, официальных методов исследования. Всем больным проводилось общеклиническое обследование. В процессе урологического обследования проводилась тотальная уретроскопия. Секрет предстательной железы получали путем массажа. Бактериологическое исследование полученного экспримата предстательной железы осуществлялось по тем же принципам, что и уретрального содержимого. Все больные подвергались серологическому обследованию на ВИЧ-инфекцию и сифилис. Микробиологическое обследование соответствовало общепринятым методикам, а также рекомендациям в современной научно-методической литературе [3]. Иммунологическое обследование пациентов проводили в динамике: до лечения, при проведении первого контроля завершения терапии и через один месяц после окончания курса терапии. Для оценки антимикробной защиты репродуктивного тракта мужчин материалом для исследования был выбран эякулят, поскольку на величину его показателей очаг воспаления любой другой локализации, имеющийся в организме, оказывает наименьшее влияние. Для оценки системного иммунитета использовали венозную кровь.

В данных биологических жидкостях определяли количество, соотношение и жизнеспособность лейкоцитов [8]. С помощью иммерсионной микроскопии учитывали активность фагоцитоза (АФ) – процент нейтрофилов, захвативших хотя бы одну частицу латекса, и интенсивность фагоцитоза (ИФ) – число поглощенных микросфер латекса в 100 подсчитанных нейтрофилах [7]. Подсчет лизосом в нейтрофилах проводили в «крестах» [11].

Исследование внутриклеточного кислородзависимого метаболизма проводили, используя НСТ-тест [14]. Постановку метода осуществляли в модификации Маянского Д.Н. [9]. Определение активности (СН50) и компонентов комплемента: С1 ингибитора, С3, С4 в семенной жидкости и периферической крови тоже шло по широко известным и описанным в специальной литературе методикам [8].

Лизоцим в семенной жидкости определяли нефелометрическим методом по Бухарину О.В. с соавт. [4]. Концентрацию иммуноглобулинов в эякуляте определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле по Mancini G. et al. [13]. Определение секреторного IgA

в семенной жидкости производилось методом радиальной иммунодиффузии по Manhini G. et al. [13] с использованием моноспецифической сыворотки против иммуноглобулина человека производства предприятия биологических и медицинских препаратов «БИОМЕД» им. И.И. Мечникова, г. Москва.

При определении цитокинов: ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ФНО- $\alpha$  в эякуляте и периферической крови были использованы соответствующие тест-системы для иммуноферментного анализа, произведенные ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург). CD-типирование лимфоцитов, выделенных из эякулята проводили с помощью методики непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител (МКА) (НПК «Препарат», г. Н.Новгород) к дифференцировочным антигенам лимфоцитов CD3, CD4, CD8, CD16, CD22, CD25, CD95. Исследование лимфоцитов периферической крови проводилось по методике иммунофенотипирования лимфоцитов в модификации Сибиряка С.В. с соавт. (1999) с использованием моноклональных антител серии ИКО (НТЦ Медиоспектр», г.Москва): анти-CD4, анти-CD8, анти-CD16, анти-CD19. Концентрацию иммуноглобулинов классов А, М и G в сыворотке крови определяли как по общепринятой методике (Mancini G. et al., 1975), так и в модификации Тихомирова А.А. [10].

Все полученные результаты исследований ( $M \pm m$ ) были обработаны общепринятыми методами вариационной статистики. О достоверности различий показателей сравниваемых групп судили по критерию Стьюдента (t). Для оценки достоверности различий при множественном сравнении использовали поправку Бонферрони. Использовали непараметрические критерии: точный критерий Фишера (ТКФ) (применялся только односторонний его вариант), критерий Крускала-Уоллиса. Различия считали значимыми только при  $p < 0,05$  [6]. Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 5.0». Результаты исследований выражали в соответствии требованиям Международной системы единиц.

**Результаты и их обсуждение.** Динамика клеточных факторов эякулята у здоровых мужчин и у больных хроническим уретритом различной этиологии показала, что существенную роль в функционировании локального иммунного комплекса здесь играют нейтрофилы. Установленный в ходе обследования высокий удельный вес их жизнеспособности доказывает защитную роль этих клеток. Из гуморальных факторов нами обнаружены не только лизоцим, иммуноглобулины, медиаторы воспаления, но и компоненты комплемента, цитокины. Все перечисленные факторы являются не только элементами «первой» линии защиты репродуктивного тракта, но и принимают участие в межклеточном взаимодействии и в локальном иммунном ответе. Таким образом, можно утверждать, что наличие инфекций, передаваемых половым путем в репродуктивном тракте

мужчин, сопровождается дисфункцией «местного иммунитета». При этом наблюдаются нарушения в системе клеточного и гуморального иммунитета, что диктует необходимость включения в комплексную терапию, наряду с антибиотиками, иммунокорректоров.

Так в формирующей части исследования, нами было предложено в экспериментальных группах для лечения пациентов с воспалительными заболеваниями половой системы применение ронколейкина и беталейкина в сочетании с антибактериальной терапией. Беталейкин вводился в виде 5 подкожных инъекций в дозе 5 нг/кг массы тела на 1,0 мл изотонического раствора с интервалом 2 дня. Препарат начинали использовать до начала курса лечения. Ронколейкин вводили в виде внутривенных вливаний по 500000 МЕ на 10,0 мл изотонического раствора медленно. Всего больные получали 3 процедуры с интервалом 2-3 дня. Критериями эффективности терапии во всех трех группах наблюдения служили: клиническое выздоровление больных, нормализация клинических анализов и элиминация возбудителей из половых путей.

Сопоставление жалоб респондентов контрольной и экспериментальных групп до начала лечения и после его окончания (в среднем на 21-28 дни лечения), а также анализ динамики качества жизни обследуемых вскрыли ряд проблем переносимости и клинической эффективности применяемого нами способа лечения относительно контроля. Так, после лечения циклофероном полученная нами статистика свидетельствует, что большинство больных хроническим простатитом (15 чел. – 83,3%) оценили качество своей жизни баллом 0 (прекрасно), 2 (11,1%) – баллом 1 (хорошо), 1 (5,5%) – баллом 2 (в общем удовлетворительно) и ни один – баллом 3 (смешанное чувство). У респондентов группы леченных ронколейкином видно, что большинство больных хроническим простатитом (17 чел. – 89,5%) оценили качество своей жизни баллом 0 (прекрасно), 2 (10,5%) – баллом 1 (хорошо) и ни один – баллом 2 (в общем удовлетворительно). У респондентов группы леченных беталейкином видно, что большинство больных хроническим простатитом (16 чел. – 94,1%) оценили качество своей жизни баллом 0 (прекрасно), 1 (5,9%) – баллом 1 (хорошо). В данном случае мы не наблюдали ни одного пациента, оценивающего после лечения качество своей жизни баллом 2 (в общем удовлетворительно).

Сравнивая показатели «местного иммунитета» до и после лечения у представителей групп, леченных циклофероном и цитокинами, было отмечено, что как в контрольной, так и в экспериментальных группах общее содержание лейкоцитов в эякуляте у больных хроническим уретритом до лечения было повышенным, при простатите – значительно повышенным. Оценивая показатели функциональной активности нейтрофилов в эякуляте у больных после лечения, видно, что терапия циклофероном, ронколейкином и беталейкином достоверно стимулирует фагоцитоз, увеличивает функциональный резерв нейтрофилов за

счет снижения спонтанной НСТ-реакции, уменьшает их лизосомальную активность.

По итогам лечения циклофероном и цитокинами происходило достоверное изменение иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8) и содержания CD16+ – лимфоцитов у всех пациентов с хроническим уретритом. У всех больных хроническим уретритом, независимо от вида лечения, после назначенной терапии максимально снизилось количество CD20+-лимфоцитов ( $p < 0,05$ ). Изучение влияния ронколейкина и беталейкина выявило тенденцию к достоверному уменьшению количества CD20+ – лимфоцитов в эякуляте у больных хроническим простатитом в экспериментальных группах при сравнении с контролем.

Дальнейший сравнительный анализ показал, что уровни IgA, IgG и sIgA в эякуляте у больных хроническим уретритом и простатитом после терапии ронколейкином и беталейкином также снизились. Необходимо отметить также и то, что в группе пациентов, получавших терапию ронколейкином и беталейкином, имелась достоверно значимая тенденция к снижению IgM в эякуляте больных хроническими уретритами.

Исследования динамики иммунного ответа репродуктивного тракта обследуемых по результатам исследования периферической крови показали, что при хроническом простатите исходный уровень лимфоцитов в периферической крови был ниже показателей в группе больных уретритом. В группе леченных беталейкином у всех респондентов мы наблюдаем и достоверное улучшение исследуемых показателей после лечения ( $p < 0,05$ ), и достоверно различаемую разницу эффективности лечения по средним величинам разницы показателей до и после терапии как циклофероном ( $p < 0,05$ ), так и ронколейкином ( $p < 0,05$ ).

После применения ронколейкина и беталейкина в периферической крови пациентов достоверно возрастало количество CD3+ – клеток, оставаясь, однако ниже нормы. Содержание CD3+ – лимфоцитов у пациентов после применения ронколейкина и беталейкина выросло, в среднем, при хроническом уретрите в 1,15 раза, простатите – в 1,25 раза. Динамика CD4+ – лимфоцитов у представителей экспериментальной группы после лечения составила со знаком плюс при хроническом уретрите 1,2 раза, простатите – 1,5 раза. В группе больных, получавших терапию цитокинами, определялось относительно контроля достоверно большее число CD3+ и CD4+ лимфоцитов ( $p < 0,05$ ).

Дисфункции гуморального звена иммунитета также имели место у больных с воспалительными заболеваниями половой системы. Несмотря на то, что динамика колебаний уровней IgA, IgG и IgM у пациентов, получавших терапию циклофероном и цитокинами, была в общем схожей, тем не менее, в ходе исследования нами были выявлены существенные различия. Нами также проводилось изучение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Так, если показатели ЦИК в группе леченных циклофероном уменьшились в среднем на 10%, то в группе леченных ронколейкином, данные уменьшения

увеличивались в среднем до 40%, а в группе леченных беталейкином – до 45%. Отмечено достоверное снижение С3 компонента комплемента у всех респондентов всех трех групп наблюдения. Терапия цитокинами также способствует нормализации уровня С1-инг компонента комплемента. Динамика показателей крови вскрыла, что до начала лечения был снижен уровень ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  у больных простатитами. Это также послужило одним из оснований для назначения обследуемым пациентам цитокинов. Терапия с использованием беталейкина также достоверно снижала уровни ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  в периферической крови по сравнению с результатами лечения циклофероном и ронколейкином.

### **Выводы:**

1. При исследовании клеточного состава эякулята у больных с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий установлено, что типичными изменениями у всех респондентов были: увеличение в нем числа лейкоцитов, относительного содержания мононуклеаров, лизосомальной активности и числа нейтрофилов, спонтанно восстанавливающих НСТ, снижение функционального резерва нейтрофилов в НСТ-тесте и фагоцитарной активности нейтрофилов; появление клеток с CD маркерами 3, 4, 8, 16, 20, 25, 95; уменьшение количества С3 компонента комплемента, ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ ; увеличение содержания общего белка, лизоцима, С4 компонента комплемента, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ , иммуноглобулинов всех классов.
2. Эндогенные ИЛ-1 и ИЛ-2 продуцируются клетками в нормальных условиях в минимальном количестве, их синтез усиливается в ответ на антигены или индукторы. Наиболее яркий и достоверный эффект применения цитокинов манифестирует беталейкин, в связи с чем, использование ИЛ-1 максимально повышает эффективность лечения мужчин цитокинами от урогенитальных инфекций различной этиологии.
3. Беталейкин способствует более яркому и достоверно значимому, относительно динамики группы контроля и группы, леченных ронколейкином, нарастанию количества лейкоцитов и лимфоцитов, снижению абсолютного и относительного количества моноцитов, нейтрофилов, увеличению активности, интенсивности фагоцитоза и функционального резерва нейтрофилов, снижению числа CD20+-лимфоцитов, увеличению концентрации С3 и С1-инг компонентов комплемента при снижении С4, увеличению уровней ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  при снижении концентрации ФНО- $\alpha$  и уровня ЦИК.

### **Список литературы**

1. Арнольди Э.К. Хронический простатит: проблемы, опыт, перспективы / Э.К. Арнольди. – Ростов-на-Дону: Феникс, 1999. – 320 с.

2. Балуюнц Э.С. К вопросу о диагностике и лечении больных хроническими простатитами и уретритами / Э.С. Балуюнц, Ш.С. Гафаров, Р.А. Пинхасов // Актуальные вопросы урологии: Межвуз. сб.- Алма-Ата, 1998. – С.64-68.
3. Бургасов П.Н. Антимикробный конституциональный иммунитет / П.Н. Бургасов, С.Н. Румянцев. – М., 2005. – 297 с.
4. Бухарин О.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О.В. Бухарин, Н.В. Васильев // Томский гос. ун-т. – Томск, 1994. – 208 с.
5. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е.В. Гублер. - Л.: Медицина, 1978. - 296 с.
6. Елисеев Е.В. Частота выявляемости антигенов фибробластов кожи человека в зависимости от стадии и формы кожного заболевания / Е.В. Елисеев, Е.Г. Кокорева, В.В. Нагаева // Научное обозрение. – № 8. – 2014. – С.163-165 .
7. Караулов А.В. Клиническая иммунология / А.В. Караулов. – М.: Мед. информ. агентство, 1999. – 606 с.
8. Кетлинский С.А. Иммунология для врача / С.А. Кетлинский, МН. Калинина. - СПб.: Гиппократ, 1998. – 156 с.
9. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление / Д.Н. Маянский. – М.: Медицина, 1991. – 272 с.
10. Тихомиров А.А. Модификация метода Манчини для количественного определения иммуноглобулинов / А.А. Тихомиров // Лабораторное дело. – 1987. – №1. – С.45-47.
11. Фрейдлин И.С. Методы изучения фагоцитирующих клеток при оценке иммунного статуса человека: учеб. пособие / И.С. Фрейдлин. – М., 1986. – 37 с.
12. Hildesheim A., McShane L.M., Schiffman M. et al. Cytokine and immunoglobulin concentrations in cervical secretions: reproducibility of the Weck-cel collection instrument and correlates of immune measures // J. Immunol. Methods. – 1999. – Vol. 225, №1 – 2. – P. 131-143.
13. Mancini G. Future studies on single radial immunodiffusion III. Quantitative analysis of related and unrelated antigens / G. Mancini, D.R. Nash, J.F. Heremans // Immunochemistry. – 1980. – №7. – P. 261-264.
14. Park B.N. Infection and nitroblue tetrasolium reduction by neutrophils: 3 diagnostic act / B.N. Park, S.M. Fikrig, E.M. Swithwick // Lancet. – 1998. – Vol.11. – P.532-534.

#### **Рецензенты:**

Байгужин П.А., д.б.н., доцент, профессор кафедры анатомии, физиологии человека и животных ФГБОУ ВПО «Челябинский государственный педагогический университет», г. Челябинск;

Сабирьянова Е.С., д.м.н., доцент, профессор кафедры спортивной медицины и физической



реабилитации ФГБОУ ВПО «Уральский государственный университет физической культуры», г.Челябинск.