

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЛИКОПИДА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ АБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРОСТАТИТОМ, СОПРОВОЖДАЮЩИМСЯ НАРУШЕНИЕМ ФЕРТИЛЬНОСТИ

Семёнов А.В., Сотникова Н.Ю., Мартенова А.А.

ГОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия Росздрава», кафедра урологии, г. Иваново

Резюме. Целью исследования являлась клинико-иммунологическая оценка эффективности применения иммуномодулятора ликопид (ЗАО «Пептек») при хроническом абактериальном простатите (ХАП), сопровождающимся нарушением фертильности.

Ликопид содержит N-ацетилглюкозаминил- β 1-4-N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамин (ГМДП), который представляет собой минимальную повторяющуюся структурную единицу пептидогликана клеточной стенки бактерий и является «патоген-ассоциированным молекулярным образом» или PAMP (pathogen-associated molecular patterns) — агентом, способным воздействовать на систему врожденного иммунитета через «образраспознающие рецепторы» или PRR (pattern-recognition receptors).

Под наблюдением находилось 38 бесплодных больных ХАП в возрасте от 20 до 45 лет ($28,84 \pm 1,13$), имевших астенотератозооспермию. Диагноз ХАП был установлен в соответствии с критериями «хронического простатита категории III-A» (NIH USA). Обследование включало выполнение спермограммы по критериям WHO и оценку фенотипа мононуклеарных клеток крови (МНК) методом проточной цитометрии (FACScan, «Becton Dickinson») по стандартной методике. Контрольную группу составили 8 фертильных мужчин в возрасте от 21 до 33 лет ($26,75 \pm 2,33$), имеющих нормозооспермию. У 24 случайно отобранных больных (основная группа) в традиционное лечение ХАП (фторхинолоны, α -адреноблокаторы) был включен препарат ликопид (10 мг в сутки *per os*, 100 мг на курс). В группу сравнения вошли пациенты ($n = 14$), получавшие только традиционное лечение. Выявлены различия в состоянии иммунной системы у больных ХАП. Наряду с «напряженным», сбалансированным состоянием иммунитета ($n = 16$) у 22 человек была выявлена системная иммуносупрессия, заключавшаяся в нарушении активации МНК и снижающая эффективность стандартного лечения. Препаратом выбора для этих больных является ликопид, применение которого обеспечивало снижение активности ХАП и нормализацию спермограммы. Дифференцированное назначение иммуномодулирующей терапии позволит избежать побочных эффектов эмпирической иммунокоррекции.

Ключевые слова: мужская фертильность, морфология сперматозоидов, хронический абактериальный простатит, ликопид, мононуклеарные клетки крови, pathogen-associated molecular patterns.

Semyonov A.V., Sotnikova N.Yu., Martenova A.A.

EFFICIENCY OF LICOPID IN THE PATIENTS WITH CHRONIC ABACTERIAL PROSTATITIS COMPLICATED WITH FERTILITY DISORDERS

Abstract. The study was aimed for evaluation of clinical and immunological efficiency of an immunomodulating drug Licopid (Peptec «CJSC») in chronic abacterial prostatitis (CAP) accompanied by fertility alterations. Licopid contains N-acetylglucosaminyl- β 1-4-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-isoglutamine (GMDP) which mimics a minimal repeated peptidoglycan structural unit from bacterial cell wall,

Адрес для переписки:

Семёнов Андрей Владимирович
153013, г. Иваново, ул. Кулонковых, 154, кв. 164.
Тел.: (4932) 41-56-51, 56-20-53 (раб.);
(4932) 39-66-33 (моб.).
E-mail: semenov@indi.ru; Andrey.Semenov@mail.ru

and it represents a pathogen-associated molecular pattern, able to influence the innate immune system via appropriate pattern-recognition receptors. Thirty-eight infertile patients with azoospermia were under observation (20 to 45 years old, a mean of 28.84 ± 1.1). CAP was diagnosed in accordance with NIH criteria, as chronic prostatitis of III-A category. Clinical examination included sperm analysis, using WHO criteria, and phenotyping of peripheral blood mononuclear cells, by the means of standard flow cytometry (FACScan, «Becton Dickinson»). A control group consisted of eight fertile males 21 to 33 years old (a mean of 26.8 ± 2.33) with normozoospermia. For twenty-four randomly selected patients (main group), a treatment with Licopid was applied (a total of 100 mg, at a daily oral dose of 10 mg), in addition to common therapeutic schedule (fluoroquinolones, α -adrenoblockers). A comparison group included fourteen patients receiving common therapy. Some differences in immune response were detectable in the CAP patients. Along with balanced («intense») state of immunity revealed in 16 subjects, 22 persons did exhibit a systemic immunosuppression which manifested as alterations in MNC activation and decreasing efficiency of the standard treatment. Licopid seems to be a drug of choice for these cases, due to decreased CAP activity and normalization of a spermogram following its application. Differentiated administration of immune modulating drugs will allow prevention of adverse effects of empirical immunocorrection. (*Med. Immunol.*, 2007, vol. 9, N 4-5, pp 435-446)

Введение

Существенный прогресс в изучении этиологии и патогенеза хронического простатита, достигнутый за последние годы, не привел, тем не менее, к столь же значительному углублению наших знаний относительно причин мужской инфертильности при этом распространенном заболевании [3, 25, 28]. В руководстве ВОЗ по диагностике и лечению бесплодия указывается, что у 30% мужчин имеются криптогенные причины патоспермии. Ухудшение основных параметров спермограммы при хроническом абактериальном простатите (ХАП) в виде астенотератозооспермии и ассоциированное с этим процессом нарушение фертильных свойств эякулята на сегодняшний день также остаются «необъяснимыми» причинами мужского бесплодия. Несмотря на то что в специальной литературе на этот счет имеются многочисленные и весьма противоречивые научные данные, патогенез этого явления нельзя назвать абсолютно изученным [18].

Учитывая отсутствие при ХАП явных микробиологических причин [17] для возникновения заболевания, взгляды ученых были направлены на поиск иных механизмов патогенеза воспаления предстательной железы и сопровождающей этот процесс патоспермии. Среди главных причин индукции патоспермии при ХАП обычно называются аутоиммунный ответ в виде прямого цитотоксического действия эффекторных иммунокомпетентных клеток (например, ЦТЛ CD8⁺ или НК) на сперматозоиды и сперматогенный эпителий [16] или косвенного воздействия антиспермальных антител (АСАТ) [1], усиление апоптоза сперматозоидов под воздействием провоспалительных цитокинов [18] и активных форм кислорода [26, 27]. Как следует из перечисленных направлений научных исследований, все на-

званные возможные патологические воздействия на сперматогенез реализуются через иммунную систему. В этой связи изучение иммунитета при ХАП более чем оправдано.

При анализе специальной литературы мы обратили внимание на вариабельность иммунологических нарушений при хроническом простатите, описываемую разными авторами [4, 11, 15]. Вероятно, отчасти это может быть объяснено несовершенством имеющихся классификаций простатита. Но несмотря на это, для лечения ХАП авторы вышеупомянутых исследований рекомендуют, как правило, назначение иммунотерапии на фоне традиционного лечения. Среди иммуностимулирующих препаратов обычно называются полиоксидоний, иммунофан, виферон, ликолипид, циклоферон и другие [2, 4, 6, 9, 14].

В этой связи наше внимание привлекли иммуномодулирующие свойства препарата ликолипид (ЗАО «Пептек»), содержащего N-ацетилглюкозаминил- β 1-4-N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамин (ГМДП), и возможность его использования в лечении мужчин, страдающих ХАП, сопровождающимся нарушениями фертильности.

ГМДП представляет собой минимальную повторяющуюся структурную единицу пептидогликана клеточных стенок практически всех известных бактерий и является «патоген-ассоциированным молекулярным образцом» или PAMP (pathogen-associated molecular patterns) — агентом, способным воздействовать на систему врожденного иммунитета через «образраспознающие рецепторы» или PRR (pattern-recognition receptors) [13, 19]. Препарат ликолипид уже некоторое время применяется в медицинской практике, известно его применение в урологии [20]. Однако мы не встретили работ, посвященных обоснованию и особенностям применения данного имму-

номодулятора при ХАП, сопровождающимся нарушениями фертильности.

Целью исследования являлась клинико-иммунологическая оценка эффективности применения ликопида при ХАП, сопровождающимся нарушениями фертильности, и разработка научно-обоснованных критериев назначения данного препарата.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 38 мужчин в возрасте от 20 до 45 лет ($28,84 \pm 1,13$), страдающих ХАП не менее двух лет. Всем пациентам проведено комплексное обследование, включающее, кроме рутинных методов, выполнение спермограммы [29] и оценку фенотипа мононуклеарных клеток крови (МНК) методом проточной цитометрии (FACScan, «Becton Dickinson», США) с помощью моноклональных антител производства ЗАО «МедБиоСпектр»: CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD71, CD45RA, CD25, CD95, CD11b, HLA-DR по стандартной методике. АСАТ определялись в периферической крови методом ИФА (тест-системы НИИ иммунологии им. Мечникова, Россия). Методом MAR (mixer agglutination reaction) вычисляли долю подвижных сперматозоидов, покрытых IgG (MAR%) [22].

У всех мужчин для исключения бактериальной инфекции нижних мочевых путей и простаты, а также для дифференциальной диагностики между воспалительным и невоспалительным синдромом хронической тазовой боли использовали четырехстаканный тест Meares-Stamey, скрининг сексуально-трансмиссивных урогенитальных инфекций (хламидиоз, микоплазмоз, трихомоноз) методами ИФА и ПЦР (тест-системы ЗАО «ИмДи», Россия). Другие исследования выполнялись по показаниям.

Контрольную группу составили мужчины, в возрасте от 21 до 33 лет ($26,75 \pm 2,33$), признанные урологически здоровыми, имеющие при этом нормозооспермию и состоящие в фертильных браках ($n = 8$).

Диагноз ХАП был установлен в соответствии с критериями «хронического простатита категории III-A» (воспалительный синдром хронической тазовой боли) по классификации Национального института здоровья США [24]. Все наблюдаемые пациенты состояли в бесплодных браках и имели патоспермию той или иной степени выраженности, дающей право констатировать наличие мужского фактора бесплодия в паре. Пациенты получали традиционное лечение ХАП (фторхинолоны в терапевтических дозах на 3-4 недели, α -адреноблокаторы, массаж простаты). Из них у 24 случайно отобранных больных (основная группа) лечение начиналось с приема препарата ликопид в течение 10 дней по 10 мг в сутки

(по 1 таб. 10 мг per os однократно в сутки, утром натощак). В группу сравнения вошли пациенты ($n = 14$), получавшие только традиционное лечение. Таким образом, были сформированы две группы, различающиеся по применению иммунотропной терапии.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ «Microsoft Office-2003». Достоверность различий сравниваемых величин оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Взаимосвязь изученных параметров оценивали с использованием коэффициента корреляции *r* при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Показатели спермограммы и иммунограммы периферической крови у пациентов контрольной группы и больных ХАП приведены в таблице 1. Концентрация сперматозоидов, относительное количество прогрессивно-подвижных сперматозоидов, процент патологических форм сперматозоидов, степень некроспермии (относительное количество мертвых сперматозоидов) и интегральный индекс качества спермы (количество морфологически нормальных, прогрессивно подвижных сперматозоидов в 1 мл эякулята) в группах фертильных и бесплодных мужчин отличались с высокой степенью достоверности, показатель MAR% IgG находился в нормальных пределах ($< 10\%$) у пациентов обеих групп, и в их периферической крови не выявлено АСАТ.

При иммунологическом исследовании у бесплодных пациентов в лимфоцитарном гейте было выявлено достоверное ($p < 0,05$) снижение содержания HLA-DR⁺ клеток, увеличение соотношения CD4⁺/CD8⁺ и количества лимфоцитов с фенотипом CD95⁺. В моноцитарном гейте было достоверно снижено относительное содержание клеток с фенотипом CD25⁺, CD95⁺, CD71⁺ и HLA-DR⁺. Корреляционный анализ позволил определить фенотипические особенности иммунокомпетентных клеток, находящихся в достоверной корреляционной связи с основными дискриминационными параметрами спермограммы (см. рисунки 1-4). Таким образом, у больных ХАП было выявлено нарушение активации МНК, взаимосвязанное с патоспермией и, возможно, являющееся значимым звеном патогенеза бесплодия у данной категории больных. Все это дало основание для включения в комплексное лечение ХАП иммунотропных препаратов.

После проведенного лечения у всех пациентов основной группы и группы сравнения была достигнута клиническая ремиссия заболевания. Однако лабораторный контроль фертильности,

ТАБЛИЦА 1. ОСОБЕННОСТИ СПЕРМОГРАММЫ, ФЕНОТИПА ЛИМФОЦИТОВ И МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ОБСЛЕДОВАННЫХ МУЖЧИН В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ ФЕРТИЛЬНОСТИ

Показатели спермограммы и иммунограммы	Фертильные (контрольная группа)	Бесплодные (больные ХАП)
n (человек)	8	38
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	168,13±17,11	124,14±11,28*
Прогрессивно-подвижные сперматозоиды (категории А+В), %	55,38±4,71	39,16±2,59*
Патологические формы сперматозоидов, %	60,75±5,81	76,66±2,34**
Степень некроспермии, %	11,35±2,20	22,85±2,66*
Индекс качества спермы, млн/мл	41,06±11,53	14,39±2,53**
MAR%IgG, %	1,75±0,53	2,06±0,29
лимфоцитарный гейт:		
CD3 ⁺ , %	62,01±4,39	66,07±1,70
CD4 ⁺ , %	34,73±2,79	35,34±1,07
CD8 ⁺ , %	15,92±1,25	13,30±0,62
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	2,28±0,26	2,93±0,16*
CD16 ⁺ , %	7,69±1,37	5,77±0,60
CD20 ⁺ , %	8,93±2,17	6,79±0,57
CD71 ⁺ , %	4,18±0,59	3,42±0,53
CD45RA ⁺ , %	66,01±6,71	63,26±2,19
CD25 ⁺ , %	5,35±0,62	4,14±0,61
CD95 ⁺ , %	5,62±0,59	7,49±0,50*
CD11b ⁺ , %	6,13±0,94	4,03±0,65
HLA-DR ⁺ , %	10,04±1,44	6,66±0,41**
моноцитарный гейт:		
CD71 ⁺ , %	63,06±5,97	46,27±4,38*
CD25 ⁺ , %	66,93±5,42	42,29±3,51**
CD95 ⁺ , %	63,32±4,35	45,61±3,88*
HLA-DR ⁺ , %	62,72±5,30	55,72±6,03*

Примечания: * – различия достоверны при $p < 0,05$; ** – различия достоверны при $p < 0,01$.

проведенный через 2 месяца после окончания лечения ХАП, выявил следующее.

В группе сравнения после стандартного лечения у большей части пациентов (табл. 2) показатели спермограммы достоверно не изменились, они продолжали соответствовать термину «астенозооспермия», несмотря на имеющуюся тенденцию к повышению концентрации сперматозоидов и доли прогрессивно-подвижных форм ($p > 0,05$). В иммунограммах этих мужчин было выявлено увеличение количества CD8⁺ лимфоцитов и снижение соотношения CD4⁺/CD8⁺ клеток ($p < 0,05$ в обоих случаях), а в моноцитарном гейте – достоверный рост доли клеток с фенотипом CD71⁺.

В основной группе после комплексного лечения с применением ликопида имел место разнонаправленный характер изменений

контрольных иммунограмм. Как и следовало ожидать, являясь иммуномодулятором, ликопид способствовал увеличению пониженных и уменьшению повышенных значений большинства маркеров. Достоверно увеличилось количество лимфоцитов с фенотипом CD3⁺, CD4⁺, CD16⁺, CD25⁺, CD71⁺ и HLA-DR⁺, уменьшилось число лимфоцитов с экспрессией CD95⁺, соотношение CD4⁺/CD8⁺ клеток достоверно не изменялось (табл. 2). В спермограммах пациентов основной группы после лечения было отмечено достоверное увеличение прогрессивно-подвижных форм сперматозоидов ($p < 0,05$). Учитывая выявленные нами корреляции фенотипа МНК периферической крови и основных показателей спермограммы, становятся понятными позитивные изменения, произошедшие в эякулятах некоторых пациентов

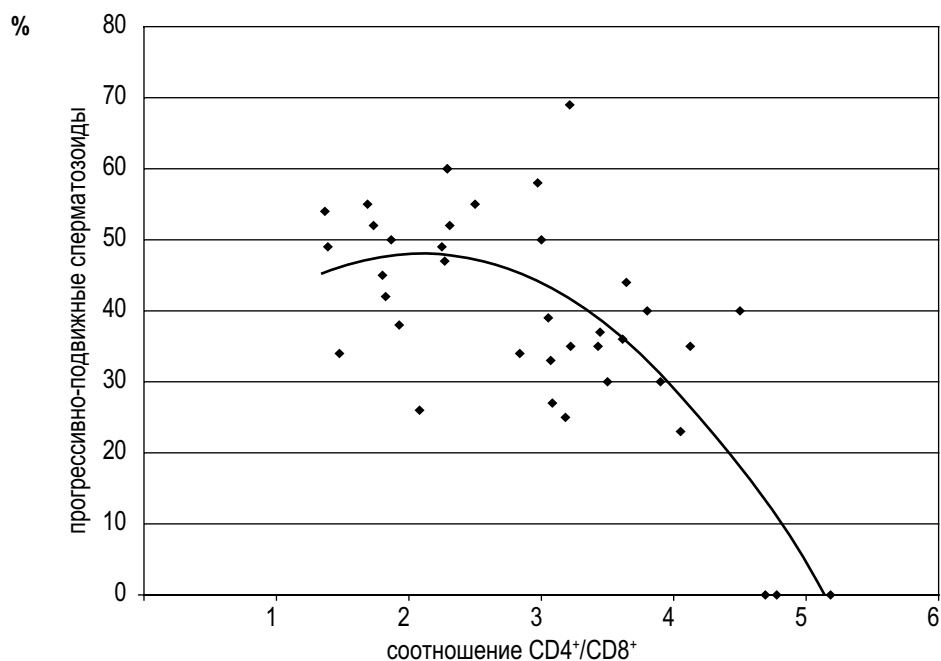


Рисунок 1. Зависимость относительного количества прогрессивно-подвижных сперматозоидов от соотношения CD4⁺/CD8⁺ лимфоцитов

после лечения с применением этого препарата. Однако как и у наблюдаемых группы сравнения, у части больных основной группы после завершения лечения не произошло улучшения спермограмм. Поэтому мы решили проанализировать исходные иммунограммы наблюдаемых пациентов для выявления возможных причин неэффективности терапии. Для этого среди больных основной группы были выде-

лены подгруппы, отличающиеся по итоговым показателям спермограммы. К подгруппе 1 отнесены больные с позитивными изменениями в контрольной спермограмме, а в подгруппу 2 вошли мужчины, сохранившие патоспермию после лечения. Показатели спермограмм и иммунограмм наблюдаемых пациентов приведены в таблицах 3 и 4 соответственно.

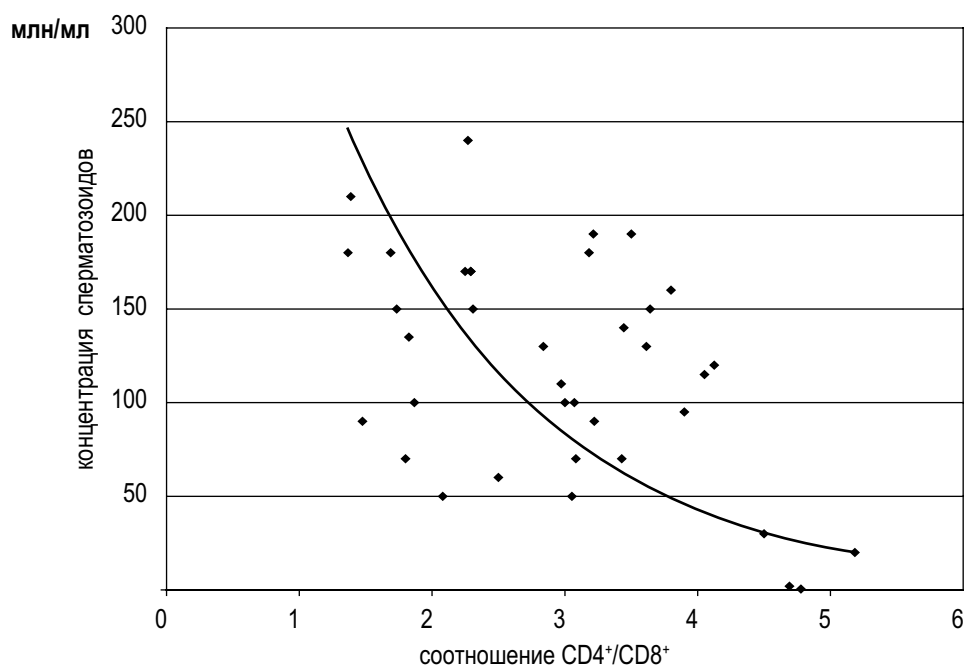


Рисунок 2. Зависимость концентрации сперматозоидов от соотношения CD4⁺/CD8⁺ лимфоцитов

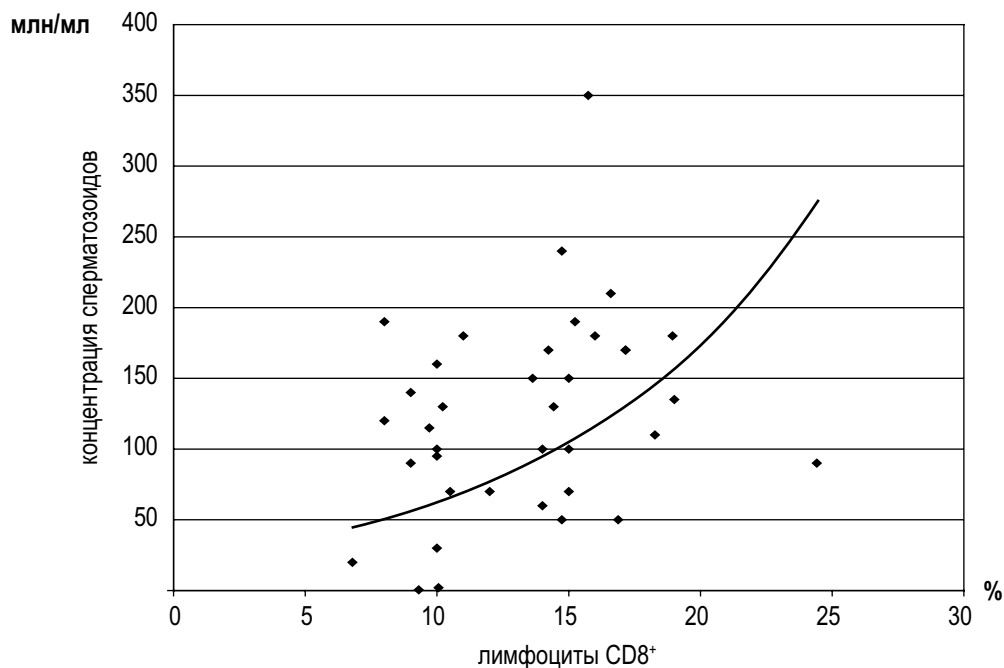


Рисунок 3. Зависимость концентрации сперматозоидов от относительного содержания лимфоцитов с фенотипом CD8+

В группе сравнения после стандартного лечения позитивные изменения иммунограмм произошли у тех больных, при детальном анализе исходных иммунограмм которых отсутствовало снижение уровня клеток с экспрессией молекул CD25, CD95, CD11b, CD16, CD71 и HLA-DR в лимфоцитарном гейте и CD25, CD95, CD71 и HLA-DR моноцитарном гейте по сравнению с контролем. У этих мужчин был достовер-

но повышено соотношение CD4+/CD8+ клеток до $3,10 \pm 0,36$. Через 10 недель после стандартного лечения их спермограммы соответствовали критериям нормозооспермии, а иммунограммы — по большинству показателей иммунограммам здоровых лиц. Эти факты позволили нам выделить в группе сравнения две подгруппы больных, отличающиеся по результатам эмпирической терапии

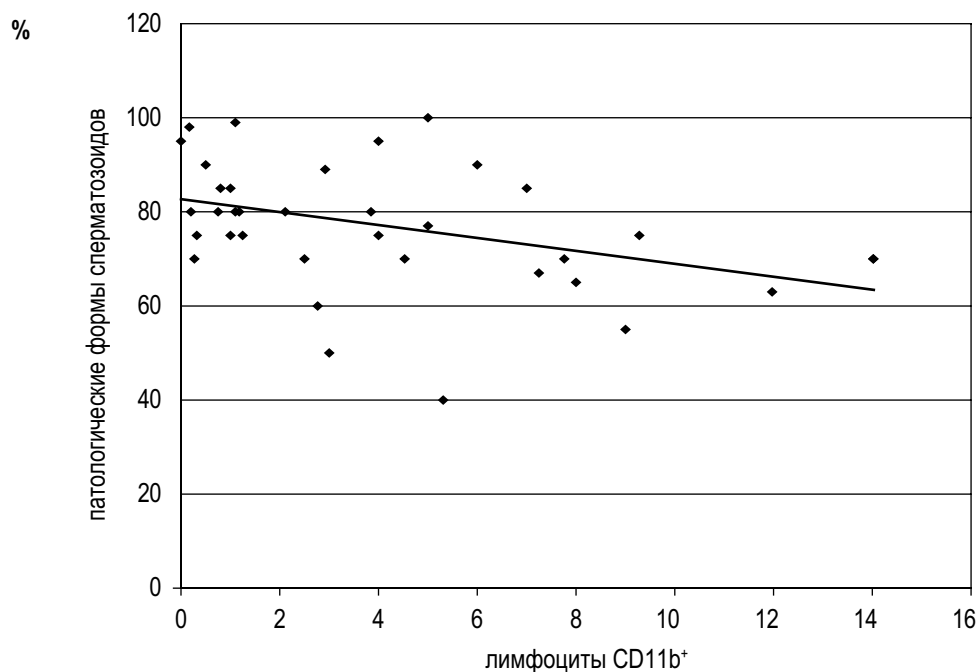


Рисунок 4. Зависимость морфологии сперматозоидов от относительного содержания лимфоцитов с фенотипом CD11b+

ТАБЛИЦА 2. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ХАП

Показатели спермограммы и иммунограммы	Группа сравнения (стандартное лечение)		Основная группа (стандартное лечение + ликопид)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
n (человек)	14	14	24	24
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	121,61±27,07	140,36±9,95	125,63±90,71	137,14±12,26
Прогрессивно-подвижные, %	37,50±5,81	48,71±2,45	40,13±2,42	49,05±3,29*
Патологические формы, %	79,00±2,82	71,00±3,06	75,29±3,34	74,90±3,08
Степень некроспермии, %	25,13±7,45	25,51±2,44	21,53±2,26	24,83±2,37
Индекс качества спермы, млн/мл	15,58±3,81	20,76±2,77	13,69±3,37	20,69±4,42
лимфоцитарный гейт:				
CD3 ⁺ , %	65,09±2,48	68,01±3,00	66,64±2,30	73,82±1,70*
CD4 ⁺ , %	36,31±1,93	34,21±1,84	34,75±1,28	40,06±1,84*
CD8 ⁺ , %	13,32±0,88	17,34±1,54*	13,29±0,86	15,28±1,24
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	3,00±0,34	2,16±0,21*	2,89±0,18	3,20±0,39
CD16 ⁺ , %	6,23±1,08	8,04±2,02	5,49±0,72	10,34±0,99**
CD20 ⁺ , %	7,10±1,03	7,16±0,97	6,60±0,69	9,58±1,46
CD71 ⁺ , %	4,36±1,26	2,04±0,58	2,96±0,49	5,13±0,65*
CD45RA ⁺ , %	58,14±3,82	59,56±4,28	65,70±2,56	68,17±3,37
CD25 ⁺ , %	5,17±1,33	3,60±1,01	3,55±0,57	8,48±1,19**
CD95 ⁺ , %	7,75±0,88	5,53±0,80	7,32±0,61	5,28±0,57*
CD11b ⁺ , %	4,25±1,35	4,41±0,88	3,91±0,70	5,71±0,56
HLA-DR ⁺ , %	6,26±0,65	7,75±1,29	6,87±0,53	11,62±1,31**
моноцитарный гейт:				
CD71 ⁺ , %	37,00±6,36	54,03±4,24*	51,18±5,54	63,34±5,60
CD25 ⁺ , %	44,41±6,30	46,07±3,94	41,24±4,33	53,74±2,60*
CD95 ⁺ , %	51,96±4,96	49,25±3,29	40,43±5,46	56,69±1,98
HLA-DR ⁺ , %	49,85±3,91	52,85±3,09	54,22±3,61	63,48±3,09

Примечания: * – различия между показателями «до» и «после лечения» достоверны при $p < 0,05$; ** – различия между показателями «до» и «после лечения» достоверны при $p < 0,01$.

(табл. 3 и 4) по аналогии с делением больных основной группы.

Большая часть иммунограмм пациентов основной группы и группы сравнения имели признаки нарушения функции иммунной системы. После стандартного лечения, проведенного у этих больных, достоверных различий в спермограммах до и после лечения выявлено не было. Итоговое иммунологическое исследование показало снижение соотношения CD4⁺/CD8⁺ клеток ($p > 0,05$) при сохраняющемся дисбалансе экспрессии активационных маркеров на поверхности МНК (см. результаты лечения больных подгруппы 1 после стандартного лечения в табл. 4). Напротив, после применения ликопида в спермограммах аналогичных пациентов основ-

ной группы отмечено достоверное увеличение доли прогрессивно-подвижных сперматозоидов, уменьшение степени некроспермии и увеличение индекса качества спермы ($p < 0,05$ во всех случаях). В иммунограммах этих мужчин констатирована нормализация основных клеточных субпопуляций (см. результаты лечения больных подгруппы 1 после лечения с применением ликопида в табл. 4).

Однако среди больных основной группы имелись пациенты с отсутствием значимых изменений в экспрессии активационных маркеров на поверхности МНК периферической крови (подгруппа 2). После лечения с применением препарата ликопид у них констатирован достоверный рост доли НК-клеток (CD16⁺), соот-

ТАБЛИЦА 3. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СПЕРМОГРАММЫ НАБЛЮДАЕМЫХ МУЖЧИН В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕТОДА ЛЕЧЕНИЯ ХАП

Показатели спермограммы	Стандартное лечение ХАП						Стандартное лечение + Ликопид										
	Подгруппа 1			Подгруппа 2			Подгруппа 1			Подгруппа 2							
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения					
	8	8	6	6	14	14	14	14	10	10	10	10					
n (человек)																	
Концентрация спермы, млн/мл	133,42±51,96	117,50±10,63	112,75±30,15	157,50±12,78	128,60±14,45	171,25±16,66	127,14±9,21	116,15±14,44									
Прогрессивно-подвижные, %	34,17±11,21	44,00±4,65	38,75±7,13	52,25±1,94*	39,30±3,75	56,25±5,37*	37,50±3,35	39,77±4,66									
Патологические формы, %	79,67±6,25	79,33±3,04	77,25±2,75	64,75±3,52*	76,00±3,71	66,50±3,34*	71,64±4,67	72,38±2,61									
Степень некро-спермии, %	27,17±7,39	29,14±2,66	23,60±9,78	22,79±3,61	28,76±4,01	18,50±4,23*	25,80±3,21	29,95±4,04									
Индекс качества спермы, млн/мл	16,50±6,16	11,58±2,87	15,06±4,85	27,66±2,17*	13,04±3,30	33,69±6,99*	15,70±5,30	14,41±4,26									

Примечание: * – различия показателей «до лечения» и «после лечения» достоверны при $p < 0,05$.

ношения $CD4^+/CD8^+$ (с $3,32 \pm 0,18$ до $4,16 \pm 0,53$), количества $CD25^+$ и $CD71^+$ лимфоцитов, что характерно для активно пролиферирующих клеток (см. результаты лечения больных подгруппы 2 с применением ликопида в табл. 3). На фоне приема ликопида у части этих пациентов ($n = 4$) отмечено обострение имевшихся хронических воспалительных экстрагенитальных заболеваний (гайморит, тонзиллит, ринит), что, вероятно, являлось следствием избыточной активации иммунной системы. Контрольные спермограммы этих больных не имели достоверных улучшений, у большинства мужчин сохранялась астенотератозооспермия различной степени выраженности.

Проанализировав результаты эмпирического лечения больных ХАП, мы позволили себе объединить больных первой подгруппы обеих групп (сравнения и основной) и второй подгруппы соответственно. Исходные иммунологические параметры этих пациентов приведены в таблице 5. Статистический анализ показал, что для больных первой подгруппы по сравнению со второй характерно достоверное снижение лимфоцитов с фенотипом $CD4^+$, $CD16^+$, $CD20^+$, $CD71^+$, $CD45RA^+$, $CD11b^+$ и соотношения $CD4^+/CD8^+$. Кроме этого, на поверхности МНК периферической крови этих мужчин достоверно снижена экспрессия молекул $CD25$, $CD95$ и $HLA-DR$.

Обсуждение

Принимая во внимание тот факт, что основным звеном патогенеза патоспермии при ХАП является негативное воздействие воспалительных субстанций семенной плазмы на сперматозоиды непосредственно, а также опосредованное влияние иммунного дисбаланса на сперматогенный эпителий, следует предположить, что ликвидация указанных патогенетических моментов, возможно, позитивно отразится на качестве спермы. Тем не менее, результаты проведенных исследований показали отсутствие полной нормализации качественных и количественных параметров спермограмм в ряде случаев и явную зависимость эффекта проводимого лечения от исходного иммунного статуса пациента. Анализ полученных результатов и опубликованных научных данных позволил нам дать следующее объяснение выявленным фактам.

Мы выявили неоднородность состояния иммунной системы у больных ХАП до лечения, что позволило нам разделить их на подгруппы. У части пациентов было выявлено так называемое «напряженное» состояние иммунной системы. У этих мужчин по сравнению с нормой отмечено статистически достоверное повышение относительного и абсолютного числа лимфоцитов, Т-клеток ($CD4^+$ и $CD8^+$), рост соотношения $CD4^+/CD8^+$ клеток и экспрессия активационных маркеров на поверхности МНК. Аналогичное состояние иммунной системы было описано М.А. Гомбергом с соавт. (1996)

ТАБЛИЦА 4. ДИНАМИКА ФЕНОТИПА ЛИМФОЦИТОВ И МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НАБЛЮДАЕМЫХ МУЖЧИН В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕТОДА ЛЕЧЕНИЯ ХАП

Показатели иммунограммы	Стандартное лечение ХАП						Стандартное лечение + Липолипид							
	Подгруппа 1		Подгруппа 2		Подгруппа 1		Подгруппа 2		Подгруппа 1		Подгруппа 2			
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения		
лимфоцитарный гейт:														
CD3 ⁺ , %	63,83±5,79	63,15±4,15	66,03±1,34	71,66±3,95	65,13±2,66	72,06±2,03*	67,72±3,52	75,07±2,54*						
CD4 ⁺ , %	31,84±2,86	29,80±1,24	39,66±2,00	37,52±2,55	29,92±1,31	34,49±1,07*	38,47±1,29	44,04±2,61*						
CD8 ⁺ , %	12,97±1,60	14,47±1,78	13,57±1,06	19,50±2,11*	14,11±1,26	19,29±1,27**	12,70±0,21	12,42±1,54						
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	2,86±0,67	2,28±0,39	3,10±0,36	2,06±0,24*	2,30±0,24	1,85±0,11*	3,32±0,18	4,16±0,53						
CD16 ⁺ , %	3,92±1,34	5,18±2,08	7,67±1,35	10,19±3,07	2,59±0,25	8,58±1,22#	7,91±0,79	11,60±1,40*						
CD20 ⁺ , %	4,56±0,99	4,48±0,27	8,38±1,27	8,76±0,96	4,94±0,98	9,00±1,80*	7,96±0,78	10,16±2,41						
CD71 ⁺ , %	1,78±0,80	0,56±0,20	6,08±1,73	3,52±0,75	1,21±0,39	4,04±0,72*	4,39±0,53	6,22±0,99*						
CD45RA ⁺ , %	54,80±6,61	62,10±4,49	60,37±4,87	57,03±7,59	60,76±3,32	58,41±4,65	69,40±3,45	77,04±3,04						
CD25 ⁺ , %	2,13±0,72	0,15±0,07*	7,44±1,93	6,19±1,05	1,03±0,27	7,10±1,07**	5,35±0,60	9,44±1,86*						
CD95 ⁺ , %	6,11±1,10	4,14±1,04	8,98±1,16	6,57±1,08	7,90±1,19	6,19±0,92	6,91±0,63	4,63±0,69*						
CD11b ⁺ , %	0,67±0,19	2,36±0,72	6,49±1,79	5,95±1,20	1,23±0,36	6,47±0,96**	5,82±0,86	5,25±0,69						
HLA-DR ⁺ , %	4,87±0,52	3,48±0,74	7,64±0,92	10,95±1,31*	5,52±0,48	11,69±1,84**	7,74±0,75	11,59±1,85*						
моноцитарный гейт:														
CD25 ⁺ , %	29,15±4,41	34,19±3,87	52,03±7,52	53,20 ±2,26	30,82±6,66	53,58±4,73*	51,66±2,88	53,85±3,25						
CD71 ⁺ , %	40,20±2,89	41,43±2,12	47,15±7,94	61,58±3,31	42,85±7,11	60,56±7,37*	58,58±7,88	65,32±8,44						
CD95 ⁺ , %	38,67±3,48	40,07±2,70	58,60±5,48	54,76±2,81	39,62±6,11	56,69±1,98*	52,56±5,52	55,79±6,46						
HLA-DR ⁺ , %	42,63±6,35	47,00±3,61	53,46±4,56	56,36±3,83	46,36±5,49	59,17±3,14*	61,21±3,57	66,55±4,64						

Примечания: * – различия показателей «до лечения» и «после лечения» достоверны при $p < 0,05$; ** – различия показателей «до лечения» и «после лечения» достоверны при $p < 0,01$.

ТАБЛИЦА 5. ИСХОДНЫЕ ИММУНОГРАММЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХАП, РАСПРЕДЕЛЕННЫХ НА ПОДГРУППЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭМПИРИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Показатели иммунограммы	Контрольная группа	Подгруппа 1 (иммуносупрессия)	Подгруппа 2 («напряженное состояние»)
n (человек)	8	22	16
лимфоцитарный гейт:			
CD3 ⁺ , %	62,01±4,39	64,64±2,62	67,10±2,26
CD4 ⁺ , %	34,73±2,79	30,64±1,31	38,92±1,08**
CD8 ⁺ , %	15,92±1,25	13,68±0,97	13,02±0,83
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	2,28±0,26	2,51±0,29	3,24±0,17*
CD16 ⁺ , %	7,69±1,37	3,04±0,48	7,82±0,70**
CD20 ⁺ , %	8,93±2,17	4,83±0,72	8,14±0,68**
CD71 ⁺ , %	4,18±0,59	1,38±0,36	4,99±0,70**
CD45RA ⁺ , %	66,01±6,71	58,93±3,01	66,39±2,92*
CD25 ⁺ , %	5,35±0,62	1,44±0,33	6,11±0,80**
CD95 ⁺ , %	5,62±0,59	7,18±0,84	7,70±0,62
CD11b ⁺ , %	6,13±0,94	1,04±0,26	6,07±0,83**
HLA-DR ⁺ , %	10,04±1,44	5,26±0,35	7,71±0,58**
моноцитарный гейт:			
CD71 ⁺ , %	63,06±5,97	42,13±5,13	53,58±5,64
CD25 ⁺ , %	66,93±5,42	30,40±5,01	51,81±3,30**
CD95 ⁺ , %	63,32±4,35	39,38±4,58	54,98±3,92*
HLA-DR ⁺ , %	62,72±5,3	45,34±4,22	58,11±2,89*

Примечания:* – различия между подгруппами 1 и 2 достоверны при $p < 0,05$;** – различия между подгруппами 1 и 2 достоверны при $p < 0,01$.

[2] у 24% больных хламидиозом. Авторы расценивали такое явление как результат сохранения элементов первичного иммунного ответа на инфекцию даже при имевшейся хронизации процесса. По их мнению, об этом свидетельствовали нормальные показатели содержания активированных В-клеток (CD21⁺), естественных киллеров (CD16⁺) и увеличение уровня IgM, поэтому, как далее доказали цитируемые исследователи, у пациентов с «напряженным» состоянием иммунной системы возможно самоизлечение. Экстраполяция данной модели на нашу ситуацию позволяет объяснить нормализацию спермограмм больных группы сравнения после «стандартного» лечения без применения иммуномодуляторов.

Наши исследования показали, что применение ликопида у пациентов с «напряженным» состоянием иммунной системы является неоправданным, так как вызывает избыточную активацию МНК. Известно, что ликопид усиливает образование активных форм кислорода, активность лизосомальных ферментов, экспрессию HLA-DR антигенов, синтез IFN γ , IL-1, TNF α и других цитокинов, активирующих Т- и В-системы иммунитета [12]. Эти субстанции наряду с позитивным (антипатогенным) действием являются

индукторами апоптоза инфицированных клеток, кроме того, доказано, что при длительно текущих хронических процессах NO может выступать в качестве агрессора [7], являющегося значимым звеном патогенеза патоспермии [10].

В настоящее время признано существование двух основных типов защитных реакций: врожденного и адаптивного иммунитета. Первой линией борьбы с инфекционными агентами служит врожденный иммунитет. Уже через несколько минут после попадания в организм патогенных микробов происходит активация врожденного иммунитета, обладающего колоссальным потенциалом для борьбы с проникшими патогенами [13]. Начало развития реакции врожденного иммунитета связано с первичным распознаванием клетками миеломоноцитарного ряда PAMP различных патогенов [23]. Активация клеток после взаимодействия PAMP с PRR приводит к последовательным этапам развития воспалительной реакции, являющейся основным механизмом реализации врожденного иммунного ответа. Одним из ключевых событий в развитии воспалительной реакции является синтез провоспалительных цитокинов, стимулирующих большинство дальнейших событий и обеспечивающих активацию различных

типов клеток, участвующих в регуляции и поддержании воспаления, включая все типы лейкоцитов, Т- и В-лимфоциты, НК-клетки, эндотелиальные и эпителиальные клетки, фибробласты и др., то есть формировании того состояния иммунной системы, которое мы только что охарактеризовали как «напряженное», имеющее четкое физиологическое предназначение, способствующее скорейшему стиханию воспалительной реакции после элиминации патогенных микроорганизмов.

Напротив, у большей части пациентов (подгруппы 1 основной группы и группы сравнения) мы сталкиваемся с отсутствием полноценной реакции иммунной системы на воспалительный процесс в простате, что, вполне вероятно, может быть связано с нарушением механизмов регуляции врожденного иммунитета. Известно, что естественными стимуляторами системы врожденного иммунитета являются фрагменты пептидогликанов клеточной стенки бактерий, образующиеся в процессе фагоцитоза [8]. В настоящее время установлено, что одним из главных ферментов, разрушающих пептидогликан, является N-ацетилмурамил-L-аланинамидаза, присутствующая в больших количествах в нейтрофилах и отсутствующая в моноцитах. Следовательно, из всех фагоцитирующих клеток только моноциты могут служить источником «естественных» ГМДП в организме [21]. Таким образом, при снижении функциональной активности популяции моноцитов, следует ожидать сбой в работе системы врожденного иммунитета.

По-видимому, именно с таким явлением мы имеем дело в первых подгруппах обеих групп наблюдаемых пациентов. Снижение экспрессии активационных маркеров (CD25, CD95, CD71, HLA-DR) на поверхности моноцитов свидетельствует об их функциональной недостаточности и должно вести к уменьшению образования глюкозаминилмурамилгопептидных фрагментов, а отсутствие этих естественных стимуляторов иммунитета может способствовать формированию иммунодефицитного состояния. Кроме того, у данных пациентов была выявлена пониженная экспрессия молекулы CD11b на поверхности лимфоцитов. По данным А.С. Симбирцева (2005) [13], этот маркер является дополнительным ЛПС-связывающим рецептором, выполняющим, по-видимому, аксессуарные функции для обеспечения оптимального взаимодействия ЛПС с PRR. Нарушения нормальных рецепторных взаимодействий еще более осложняют активацию защитных реакций.

В русле описанной гипотезы становятся абсолютно понятными те позитивные изменения в иммунологических показателях, которые происходили после применения ликопида у данных пациентов. Комплекс веществ мурамилпептидной

природы, содержащийся в препарате, нормализует фагоцитоз, повышает функциональную активность моноцитов и естественных киллеров [5]. Сбалансированная работа системы врожденного иммунитета обеспечивает скорейшее стихание воспаления и опосредованно ведет к улучшению качества спермы у больных ХАП.

Принятие описанного нами механизма реализации позитивного влияния ГМДП на качество спермы у больных ХАП, сопровождающегося нарушениями фертильности, наводит еще на одну важную мысль. Поскольку ГМДП является веществом, идентичным фрагментам естественного ЛПС бактериальной стенки, и дифференцированное применение данного препарата при ХАП имеет позитивный эффект, мы вынуждены поставить под сомнение правомочность самого термина ХАП или диагностической дефиниции «воспалительный синдром хронической тазовой боли». Следует признать, что микробиологический фактор все же играет определенную роль в патогенезе нарушений фертильности при данном заболевании, а способы идентификации инфекционного агента требуют дальнейшего изучения.

Заключение

Проведенные нами исследования выявили различия в состоянии иммунной системы у больных ХАП, сопровождающимся нарушением фертильности. Наряду с «напряженным», сбалансированным состоянием иммунитета имеется большая группа пациентов, для которой характерна системная иммуносупрессия, заключающаяся в нарушении активации основных популяций МНК и снижающая эффективность стандартного лечения. Наши исследования показали, что препаратом выбора для этих больных является ликопид, применение которого обеспечило снижение активности воспалительного процесса в простате и нормализацию спермограммы. Дифференцированное назначение иммуномодулирующей терапии позволит избежать побочных эффектов эмпирической иммунокоррекции.

Список литературы

1. Божедомов В.А., Лоран О.Б., Сухих Г.Т. Этиология и патогенез мужского аутоиммунного бесплодия. Часть 1, 2 // Андрология и генитальная хирургия. — 2001. — № 1. — С. 72-87.
2. Гомберг М.А., Соловьев А.М., Еремина О.Ф. Иммунологические подходы к лечению больных хронической персистирующей хламидийной урогенитальной инфекцией // Заболевания, передаваемые половым путем. — 1996. — № 4. — С. 32-37.
3. Евдокимов В.В., Ерасова В.И., Орлова Е.В., Демин А.И., Марчук Н.В. Репродуктивная функция у больных хроническим абактери-

- альным простатитом // Урология. – 2006. – № 2. – С. 68-69.
4. Зиганьшин О.Р. Использование ронколейкина при лечении больных с воспалительными заболеваниями половой системы // Иммунология. – 2001. – № 2. – С. 49-52.
5. Козлов И.Г. Лекарственные воздействия через рецепторы врожденного иммунитета. – М., 2005. – 16 с.
6. Лебедев В.В. Иммунофан – синтетический пептидный препарат нового поколения: иммунологические и патогенетические аспекты клинического применения // Иммунология. – 1999. – № 1. – С. 25-33.
7. Маеда Х., Акаике Т. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке // Биохимия. – 1998. – Т. 64, № 7. – С. 1007-1019.
8. Мазуров Д.В., Львов В.Л., Карсонова М.И., Пинегин Б.В. Изучение способности моноцитов периферической крови человека расщеплять пептидогликаны клеточной стенки бактерий с образованием глюкозаминилмурамилолигопептидных фрагментов // Иммунология. – 2001. – № 3. – С. 21-24.
9. Разумов С.В., Медведев А.А., Чирун Н.В., Сивков А.В., Ощепков В.Н., Синюхин В.Н. Роль цитокинов в диагностике хронического простатита // Урология. – 2003. – № 6. – С. 25-28.
10. Семёнов А.В., Томилова И.К., Паникратов К.Д., Кадыкова Е.Л., Башарин А.В. Роль оксида азота в нарушении фертильности у мужчин // Урология. – 2005. – № 6. – С. 31-36.
11. Серегин С.П. Местный окислительный и иммунный статус у больных хроническим простатитом // Андрология и генитальная хирургия. – 2001. – № 4. – С. 43-45.
12. Серкова Н.А., Серков И.Л., Кулаков А.В. Использование нового отечественного иммуномодулятора ликопида для снижения сезонной заболеваемости // Иммунология. – 2000. – № 3. – С. 62-64.
13. Симбирцев А.С. Толл-белки: специфические рецепторы неспецифического иммунитета // Иммунология. – 2005. – Т. 26, № 6. – С. 368-377.
14. Соловьев А.М., Гомберг М.А. Применение иммунотерапии при лечении рецидивирующих форм урогенитальной хламидийной инфекции у мужчин // Андрология и генитальная хирургия. – 2000. – № 1. – С. 114-115.
15. Ткачук В.Н., Аль-Шукри С.Х., Лотцан-Медведев А.К. Оценка эффективности витапроста у больных хроническим абактериальным простатитом // Урология. – 2006. – № 2. – С. 71-75.
16. Фильченков А.А., Степанов Ю.М., Липкин В.М., Кушлинский Н.Е. Участие системы Fas/Fas-лиганд в регуляции гомеостаза и функционировании клеток иммунной системы // Аллергология и иммунология. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 24-35.
17. Diemer T., Huwe P., Ludwig M., Hauck E.W., Weidner W. Urogenital infection and sperm motility // *Andrologia*. – 2003. – Vol. 35, N 5. – P. 283-287.
18. Everaert K., Mahmoud A., Depuydt C., Maeyaert M., Comhaire F. Chronic prostatitis and male accessory gland infection – is there an impact on male infertility (diagnosis and therapy)? // *Andrologia*. – 2003. – Vol. 35, N 5. – P. 325-330.
19. Girardin S.E., Travassos L.H., Herve M., Blanot D., Boneca I.G. Peptidoglycan molecular requirements allowing detection by Nod1 and Nod2 // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, N 43. – P. 41702-41708.
20. Guskov A.R., Gorlina N.K. Immunocorrection therapy in complex treatment of prostatitis // *Rus. J. of Immunol.* – 1998. – Vol. 3, N 2. – P. 159-166.
21. Hoijer M.A., Melief M.J., Keck W., Hazenberg M.P. Purification and characterization of N-acetylmuramyl-L-alanine amidase from human plasma using monoclonal antibodies // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1996. – Vol. 1289, N 1. – P. 57-64.
22. Jager S., Kremer J., van Slochteren-Draaisma T. A simple method of screening for antisperm antibodies in the human male // *Int. J. Fertil.* – 1978. – Vol. 23. – P. 12-21.
23. Janeway S. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* – 1989. – Vol. 54. – P. 1-13.
24. Nickel J.C. Prostatitis: myths and realities // *Urology*. – 1998. – Vol. 51. – P. 362-366.
25. Schoor R.A. Prostatitis and male infertility: evidence and links // *Curr. Urol. Rep.* – 2002. – Vol. 3, N 4. – P. 324-329.
26. Villegas J., Kehr K., Soto L., Henkel R., Miska W., Sanchez R. Reactive oxygen species induce reversible capacitation in human spermatozoa // *Andrologia*. – 2003. – Vol. 35, N 4. – P. 227-232.
27. Wang X., Sharma R.K., Sikka S.C., Thomas A.J.Jr., Falcone T., Agarwal A. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility // *Fertil. Steril.* – 2003. – Vol. 80, N 3. – P. 531-535.
28. Weidner W., Krause W., Ludwig M. Relevance of male accessory gland infection for subsequent fertility with special focus on prostatitis // *Hum. Reprod. Update*. – 1999. – Vol. 5, N 5. – P. 421-432.
29. WHO laboratory manual for the examination of human sperm and semen-cervical mucus interaction. – WHO, 4th edn. – Camb. univers. press, 1999. – 128 p.

поступила в редакцию 18.01.2007
принята к печати 29.01.2007