

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Бухарин О.В., Кузьмин М.Д., Перунова Н.Б., Никифоров И.А., Чайникова И.Н., Иванова Е.В.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ ЦИТОКИНОВЫЙ МАРКЕР БЕСПЛОДИЯ МУЖЧИН – ИНТЕРЛЕЙКИН 4

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, обособленное подразделение ФГБУН
ОФИЦ УрО РАН, 460014, г. Оренбург, Россия

Представлен анализ диагностической значимости цитокинов в спермоплазме мужчин репродуктивного возраста (20 – 45 лет) в двух группах: больных хроническим бактериальным простатитом, не осложненным бесплодием и с потерей фертильности. При обследовании пациентов соблюдены акты национального стандарта, исследование спермоплазмы проводили по стандарту ВОЗ. Определение уровня цитокинов в семенной плазме проводили методом ИФА («Цитокин», Россия). Для выявления диагностической значимости в развитии бесплодия цитокинов спермоплазмы использованы два метода математической статистики: дискриминантный анализ и деревья классификаций (деревья решений). Анализ исследуемых признаков (содержание цитокинов в спермоплазме) при диагностике бесплодия с применением двух методов многомерного статистического анализа позволил конкретизировать круг наиболее информативных показателей. Отмечено сходство интерпретаций дискриминантного анализа и дерева решений, где главная роль в обоих случаях принадлежит цитокину ИЛ-4. Диагностическая значимость ИЛ-4 в развитии мужского бесплодия у больных с хроническим простатитом подтверждается двумя методами математической статистики. Уровень спермального ИЛ-4 в сочетании с терапевтическим мониторингом может быть использован для медицинского ведения пациентов с хроническим простатитом с целью профилактики развития бесплодия и для разработки методов скрининговой диагностики нарушений фертильности у мужчин.

Ключевые слова: бесплодие у мужчин; цитокины; интерлейкин 4; бактериальный простатит; дискриминантный анализ; дерево решений.

Для цитирования: Бухарин О.В., Кузьмин М.Д., Перунова Н.Б., Никифоров И.А., Чайникова И.Н., Иванова Е.В. Диагностический цитокиновый маркер бесплодия мужчин – интерлейкин 4. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (3): 151-157. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-3-151-157>

Для корреспонденции: Перунова Наталья Борисовна, д-р мед. наук, проф., вед. науч. сотр. лаб. инфек. симбиологии; e-mail: perunovanb@gmail.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 09.07.2021

Принята к печати 28.09.2021

Опубликовано 25.03.2022

Bukharin O.V., Kuzmin M.D., Perunova N.B., Nikiforov I.A., Chainikova I.N., Ivanova E.V.

DIAGNOSTIC CYTOKINE MARKER OF MALE INFERTILITY – INTERLEUKIN 4

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, separate subdivision OFRC,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 460014, Orenburg, Russia

Analysis of the study is to assess the diagnostic significance of cytokines in the sperm plasma of men of reproductive age (20 – 45 years) of two groups: of patients with chronic bacterial prostatitis, not complicated by infertility and with loss of fertility. The study of sperm plasma – the WHO standard. Determination of the level of cytokines in seminal plasma – by enzyme immunoassay («Cytokine», Russia). Two methods of mathematical statistics were used: discriminant analysis and classification trees (decision trees). The similarity of interpretations of discriminant analysis and decision tree was noted, where the main role in both cases belongs to the cytokine IL-4. The level of sperm IL-4 in combination with therapeutic monitoring can be used for the medical management of patients with chronic prostatitis in order to prevent the development of infertility and to develop methods for screening diagnostics of fertility disorders in men.

Key words: infertility in men; cytokines; interleukin 4; bacterial prostatitis; discriminant analysis; decision tree.

For citation: Bukharin O.V., Kuzmin M.D., Perunova N.B., Nikiforov I.A., Chainikova I.N., Ivanova E.V. Diagnostic cytokine marker of male infertility – interleukin 4. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (3): 151-157 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-3-151-157>

For correspondence: *Perunova N.B.*, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Infectious Symbiology; e-mail: perunovanb@gmail.com

Information about authors:

Bukharin O.V., <https://orcid.org/0000-0002-6039-5265>;

Perunova N.B., <https://orcid.org/0000-0002-6352-8879>;

Nikiforov I.A., <https://orcid.org/0000-0002-1470-9083>;

Chainikova I.N., <https://orcid.org/0000-0002-8923-8829>;

Ivanova E.V., <https://orcid.org/0000-0002-4974-8947>.

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study was performed without external funding.*

Received 09.07.21

Accepted 28.09.21

Published 25.03.2022

Введение. Проблема бесплодия у мужчин является не такой уж редкой в патологии репродуктивного здоровья и встречается в 13-18% случаев, занимая 3-4 место в урологической практике [1]. В последнее время проблема актуализирована еще и с возникновением эпидемиологической угрозы в связи с эпидемией COVID-19. Вследствие проникновения вируса в тестикулярные клетки может быть нарушен процесс сперматогенеза, что увеличивает риск развития мужской фертильности, даже у лиц молодого возраста. Учитывая, что одним из неблагоприятных исходов течения болезни является бактериальный простатит и развитие бесплодия [2,3], в ранее опубликованной нами работе были показаны выявленные различия в уровне цитокинов, определяемых в спермоплазме больных с хроническим бактериальным простатитом, осложненным бесплодием и без него [4]. Вместе с тем, выявленный широкий спектр цитокинов в семенной плазме представлял интерес ретроспективно оценить диагностическую значимость отдельных цитокинов, играющих важную роль в развитии мужского бесплодия как осложнения хронического бактериального простатита.

В связи с этим мы предприняли попытку проанализировать уровни цитокинов в семенной плазме (спермоплазме) больных хроническим бактериальным простатитом, не осложненным бесплодием и с потерей фертильности. Этот анализ был проведен с использованием двух методов многомерной математической статистики – дискриминантный анализ (ДА) и метод деревьев – принятие решений по полученным нами ранее данным.

Учитывая, что одним из неблагоприятных исходов течения хронического бактериального простатита является развитие бесплодия, в ранее опубликованной нами работе были показаны различия в уровне цитокинов, определяемых в спермоплазме больных с хроническим бактериальным простатитом, осложненным бесплодием и без него [4]. Вместе с тем, учитывая широкий спектр цитокинов, выявляемых в семенной плазме, представляет интерес оценить диагностическую значимость отдельных цитокинов, играющих значительную роль в развитии мужского бесплодия как осложнения хронического бактериального простатита.

Целью настоящего исследования явилась оценка уровня цитокинов в семенной плазме (спермоплазме) больных хроническим бактериальным простатитом, как не осложненным бесплодием, так и с потерей фертильности. Для определения у лиц различных групп цитокиновых диагностических маркеров развития бесплодия на фоне хронического бактериального простатита мы использовали два различных метода статистической обработки материала – дискриминантный анализ (ДА) и метод деревьев (принятие решений).

Материал и методы. Проведено ретроспективное сравнительное рандомизированное исследование, включающее две группы мужчин репродуктивного возраста (20 – 45 лет), больных хроническим бактериальным простатитом, осложненным бесплодием (ХПБП) и без нарушения фертильности (ХП).

Протокол исследования одобрен комитетом по биоэтической этике Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. При обследовании пациентов соблюдались акты национального стандарта РФ ГОСТР 52379-2005 о надлежащей клинической практике.

В 1-ю группу вошли 20 пациентов с хроническим бактериальным простатитом, у которых при исследовании эякулята не было выявлено изменений в спермограмме. 2-я группа – 32 пациента с хроническим бактериальным простатитом, осложненным бесплодием, у которых выявлены нарушения в спермограмме.

Пациенты с инфекциями, передаваемыми половым путем, были исключены из исследования.

Алгоритм обследования пациентов включал сбор анамнеза, оценку жалоб, физикальные методы, в том числе трансректальное УЗИ и пальцевое ректальное исследование предстательной железы (ПЖ). Также проводили анкетирование с помощью шкалы оценки симптомов хронического простатита национального института здоровья США (NIH-CPSI) и международного индекса эректильной функции (IIEF-5).

Критерии постановки диагноза хронического бактериального простатита и включения пациентов в исследование:

1. Клинические признаки (один или несколько): боли различной локализации (промежность, над лоном, в яичках, крестце, паховой области и т.д.); расстройство мочеиспускания (учащенное мочеиспускание, вялая или прерывистая струя мочи, чувство неполного опорожнения мочевого пузыря, боль во время мочеиспускания); нарушения эякуляции (преждевременная эякуляция, боли при и после эякуляции, гемоспермия).

2. Увеличение количества лейкоцитов в секрете ПЖ (более 10–15 в поле зрения) или в моче, полученной после массажа ПЖ.

3. Культуральное подтверждение возбудителя ХП.

3. Длительность заболевания не менее 1 года.

4. Возраст 20 – 45 лет.

Исследование эякулята проводили по стандарту ВОЗ. Для исключения ошибок в случае выявления патоспермии при первичном обследовании через 2 нед проводили повторное исследование. Определяли общий объем эякулята, цвет, pH, время разжижения спермы, общее количество сперматозоидов в 1 мл эякулята, их подвижность. Выделяли прогрессивно-подвижные, непрогрессивно-подвижные и неподвижные сперматозоиды. Определяли морфологию, агглютинацию сперматозоидов, клетки сперматогенеза, количество лейкоцитов, эритроцитов, слизь, лецитиновые зерна.

Определение уровня цитокинов (интерлейкина (ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-17), фактор некроза опухоли (ФНО- α), интерферон (ИФН- α), рецепторный антагонист интерлейкина – 1(РаИЛ-1)) в семенной плазме проводили методом иммуноферментного анализа с использованием наборов «Цитокин» (Санкт-Петербург, Россия). Результаты регистрировали на фотометре Multiskan Labsystems (Финляндия) при длине волны 492 нм. Пороговые значения цитокинов соответствовали минимальной концентрации калибровочных проб наборов ИФА, которые составляли 2,0 пг/мл для ИЛ-4; 5,0 пг/мл для ФНО- α , ИЛ-6, ИФН- α и ИЛ-10; 20,0 пг/мл для ИЛ-17 и ИЛ-8; 50,0 пг/мл для РаИЛ-1.

Аналитические результаты, связанные с исследуемой выборкой, представлены признаками, приведенными в табл. 1 и 2.

Наличие клинического диагноза у обследуемых обеих групп позволяет найти отличия диагностируемых групп (ХП и ХПБП) друг от друга и в многомерном пространстве исследуемых цитокинов. Для выявления диагностически значимых наиболее информативных па-

раметров, определяемых в спермоплазме обследуемых обеих групп пациентов, использовали два метода многомерной математической статистики:

1. Дискриминантный анализ;
2. Деревья классификаций (деревья решений).

Оба метода входят в арсенал статистического комплекса STATISTICA 10.

Результаты. У 32 пациентов (2-я группа) с ХПБП были выявлены нарушения в спермограмме по двум параметрам: подвижность сперматозоидов категории А+В и морфология по Крюгеру (табл. 3). Различия по таким показателям эякулята, как объем, количество сперматозоидов в 1 мл, количество лейкоцитов (млн/мл) были не существенны.

Дискриминантный анализ выполняет расчет линейных дискриминантных уравнений, способных разделить подмножество пациентов исключительно с хроническим простатитом (ХП) и группу больных с бесплодием на фоне хронического простатита (ХПБП). Из всех признаков в качестве значимых и информативных для дискриминантной модели программа отобрала только 5: ИЛ-17, ИЛ-4, ФНО-а, ИЛ-8 и ИНФ-а. Коэффициенты этого уравнения формируют единственный дискриминантный корень ROOT1 со структурой, приведенной в табл. 4.

Поскольку для каждого пациента существует свое решение данного уравнения, график значений ROOT1 по всей выборке отражает главную тенденцию различия больных с разными диагнозами:

- для хронического простатита значения ROOT1 в большинстве случаев ниже нулевых;
- для случаев хронического простатита, осложненного бесплодием, значения ROOT1 характеризуются положительными значениями дискриминантного корня.

На построенном по данным дискриминантного анализа графике значений Root1 наблюдается явное различие наблюдений больных с разными диагнозами. Анализ дискриминантного уравнения, представленного в нижней части рис. 1, показывает, что для хронического простатита (ХП, см. рис.1) значения дискриминантного корня Root1 в большинстве случаев ниже нулевых, а высокие положительные значения Root1 характерны для больных с бесплодием (ХПБП, см. рис.1). Это сопровождается значительным ингибированием значений ИЛ-4 и в меньшей степени ИЛ-17 и ФНО-а. Одно-

временно с этим происходит некоторый рост значений ИЛ-8 и ИНФ-а.

Таким образом, появляются свидетельства потери фертильности (другими словами рост значений Root1) при интенсивном снижении значений ИЛ-4 (коэффициент -1.08) и в меньшей степени ИЛ-17 и ФНО-а. На фоне этого значения ИЛ-8 и ИНФ-а незначительно возрастают (коэффициенты 0.56 и 0.58 соответственно).

Таблица 1

Эталонный массив данных клинической выборки больных хроническим бактериальным простатитом без бесплодия (ХП)

№	ФНО-а	ИНФ-а	РаИЛ-1	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-8	ИЛ-10	ИЛ-17
1.	6.2	15	191	260	0	40	5.9	210
2.	7.9	11	326	125	51	37	5.2	190
3.	0	9.0	272	109	49	33	4.9	464
4.	6.6	8.0	321	100	58	41	6.1	322
5.	10.1	8.0	1508	113	48	36	5.8	210
6.	6.4	8.0	2489	104	105	38	5.8	281
7.	15.6	7.0	191	101	0	41	5.4	332
8.	8.4	8.6	310	109	51	33	5.1	220
9.	7.2	9.2	1587	264	49	35	5.4	180
10.	4.6	15.1	210	120	0	32	5.1	461
11.	14.5	9.9	264	110	54	40	5.0	341
12.	0	9.2	320	251	0	36	5.7	210
13.	7.5	7.5	1826	115	47	30	5.3	413
14.	8.0	8.2	182	123	53	41	6.1	332
15.	12.5	8.9	329	111	58	40	4.9	210
16.	6.8	9.4	2116	252	0	34	6.0	190
17.	15.1	7.9	190	110	47	37	5.5	219
18.	0	8.3	339	112	52	31	5.2	322
19.	7.1	8.2	326	115	58	38	6.0	210
20.	6.7	8.7	1498	113	0	40	5.6	460

Примечание. Здесь и в табл. 2: значения цитокинов приведены в пг/мл; 0 – значения уровня цитокина ниже порога чувствительности ИФА-набора.



Рис. 1. График изменений дискриминантного корня Root1 у больных хроническим простатитом и у больных хроническим простатитом, осложненным бесплодием.

Таблица 2

Эталонный массив данных клинической выборки больных хроническим бактериальным простатитом, осложненным бесплодием (ХПБП)

№	ФНО-α	ИНФ-α	РаИЛ-1	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-8	ИЛ-10	ИЛ-17
1.	5.7	18	877	233	0	40	5.1	210
2.	7.4	9.0	581	104	0	39	5.0	271
3.	6.4	19	474	218	69	37	5.0	312
4.	7.6	8.0	1279	107	317	37	5.1	292
5.	6.8	7.0	393	110	0	39	5.0	170
6.	6.2	9.0	272	107	49	39	5.1	220
7.	0	9.0	245	104	49	38	0	251
8.	6.1	9.0	272	98	49	35	5.8	241
9.	7.5	8.0	245	103	0	35	14.8	220
10.	7.9	8.0	527	109	252	38	5.2	271
11.	9.4	17	259	104	0	34	5.8	281
12.	5.8	7.0	232	103	60	36	6.1	220
13.	7.3	8.0	259	109	70	34	5.7	109
14.	5.6	9.0	1279	212	135	48	5.4	261
15.	5.2	9.0	232	106	55	34	5.1	261
16.	5	7.0	111	101	49	38	0	231
17.	7.5	9.0	312	106	0	38	5.2	190
18.	5.2	7.0	191	101	48	36	0	261
19.	5.9	7.0	514	110	0	36	5	312
20.	5.8	8.0	272	106	0	35	5.4	271
21.	0	8.0	2448	101	51	34	0	108
22.	9.4	10	903	106	143	40	5.4	180
23.	6.1	9.0	111	107	0	36	5.7	180
24.	8.0	8.0	1696	106	253	40	5.9	241
25.	7.2	8.0	648	104	0	35	5.6	281
26.	6.2	7.0	809	107	136	40	5.1	342
27.	5.3	7.0	554	100	0	37	5.5	220
28.	7.3	7.0	205	107	49	39	6.6	220
29.	0	8.0	1092	106	125	39	5.1	200
30.	6.0	9.0	326	106	46	40	5.5	261
31.	7.5	8.0	232	115	49	41	5.3	231
32.	6.3	7.0	756	104	0	35	5.6	190

Дерево классификаций или дерево решений строится по данным содержания исследуемых цитокинов в спермоплазме для разработки индуктивных правил распознавания диагнозов. Правила генерируются при обобщении множества отдельных наблюдений, описывающих предметную область, представленную клинической выборкой.

Форма решения представляется древовидной иерархией, построенной путем статистического распознавания клинических диагнозов через набор информативных показателей. Они вычисляются независимо от определенных ранее при дискриминантном анализе, что позволяет сравнить результаты обоих методов. Удачный вариант такого дерева решений представлен на рис. 2.

Таблица 3

Показатели эякулята пациентов обеих обследуемых групп

Параметры	1-я группа (n=20)	2-я группа (n=32)
Объем эякулята	3,2±0,22	3,4±0,24
Количество сперматозоидов, мл	41,4±2,6	38,2±2,7
Подвижность сперматозоидов категории А+В, %	64,1±2,2	28,4±1,8*
Морфология по Крюгеру, %	8,1±1,6	3,8±1,2*
Концентрация лейкоцитов, млн/мл	1,8±0,2	2,1±0,3
Клетки сперматогенеза, %	2,4	3,6

Примечание. * – $p \leq 0,05$ при сравнении 1-й и 2-й группы.

Таблица 4

Структура дискриминантного корня ROOT1

Признаки	ROOT1
ИЛ-4	-1.07758
ИЛ-17	-0.84177
ФНО-α	-0.72913
ИЛ-8	0.55865
ИНФ-α	0.57827

Интерпретация диаграммы дерева решений состоит в описании природы и компонентных связей каждого уровня возникшей древовидной структуры. Дерево состоит из 5-ти уровней, которые распадаются на ветви, продолжающие делиться, и листья, которые уже делению не подвержены.

Деления каждой ветви означают дифференциацию пациентов на группы ХП и ХПБП. По мере формирования дерева, от уровня к уровню эта классификация становится все более точной, достигая в конце тех же значений, что и в исходной клинической выборке.

В нашем случае общая численность ХПБП складывается из контингентов Листа № 8 – это 3 человека и листа № 10, на котором разместилось 29 человек. Сумма составляет 29+3=32 человека.

Численность больных с хроническим простатитом можно подсчитать, сложив листы 3, 7, 9 и 11. Это в сумме составит: 10+4+4+2= 20 больных ХП. Общий исходный массив включает 32+20=52 человека. Эти числа полностью совпадают с данными исходной таблицы, что означает безусловную правильность нашего решения.

Вклад каждого признака (уровень цитокина в эякуляте) в распознавании диагнозов, т.е. формы заболевания (хронический простатит и хронический простатит, осложненный бесплодием), необходимых для построения дерева классификации, представлен на гистограмме (рис. 3).

Анализируя эти данные (рис. 3), следует отметить сходство наших интерпретаций дискриминантного анализа и дерева решений, где главная роль в обоих случаях принадлежит цитокину ИЛ-4, который причастен к формированию двух уровней и шести ветвей/листьев дерева решений. Роль остальных признаков значительно скромнее. И только ИЛ-17 и ФНО-α проявили себя, создав по 2 ветви/листа каждая.

Оценивая в целом полученные материалы, следует отметить, что при анализе исследуемых признаков (со-

Классификационное дерево таблицы 1 (Diagnosis)

Число развилок = 5; Количество листьев (решений) = 6

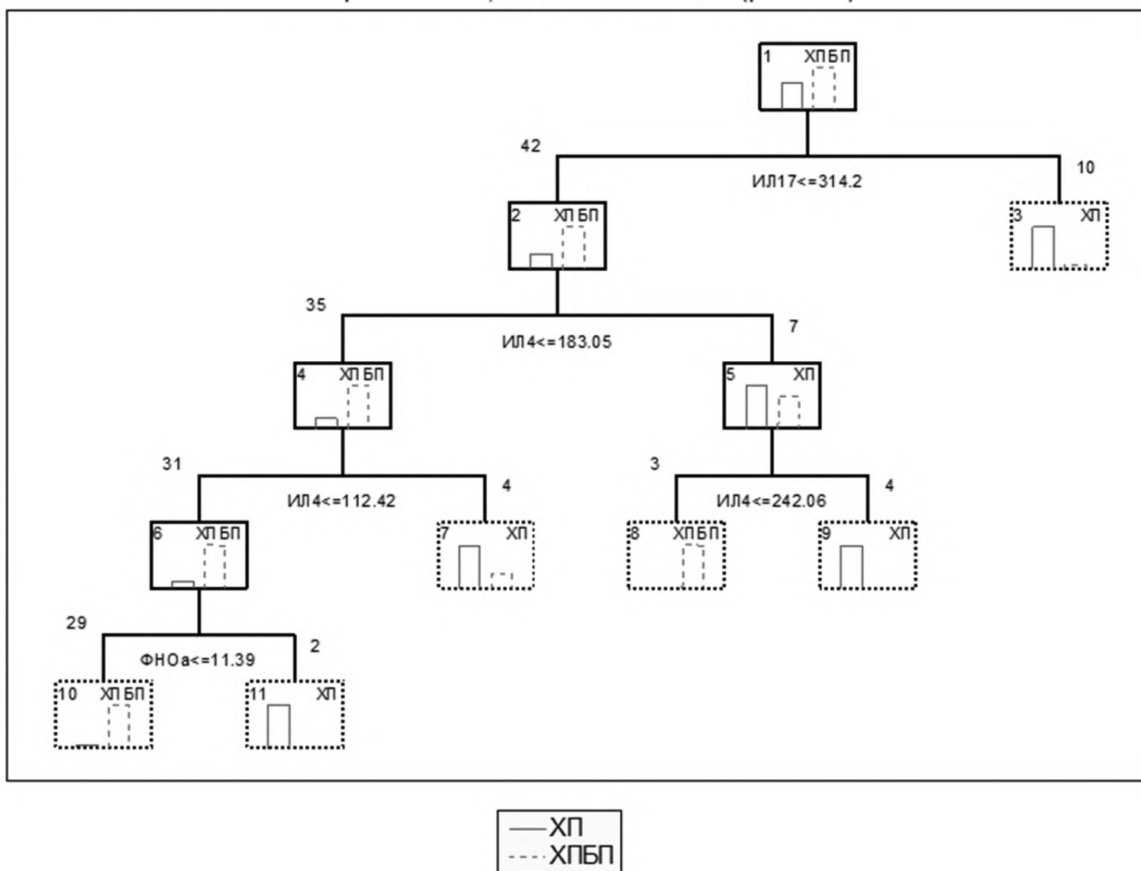


Рис. 2. Структура дерева решений исследуемой клинической выборки.

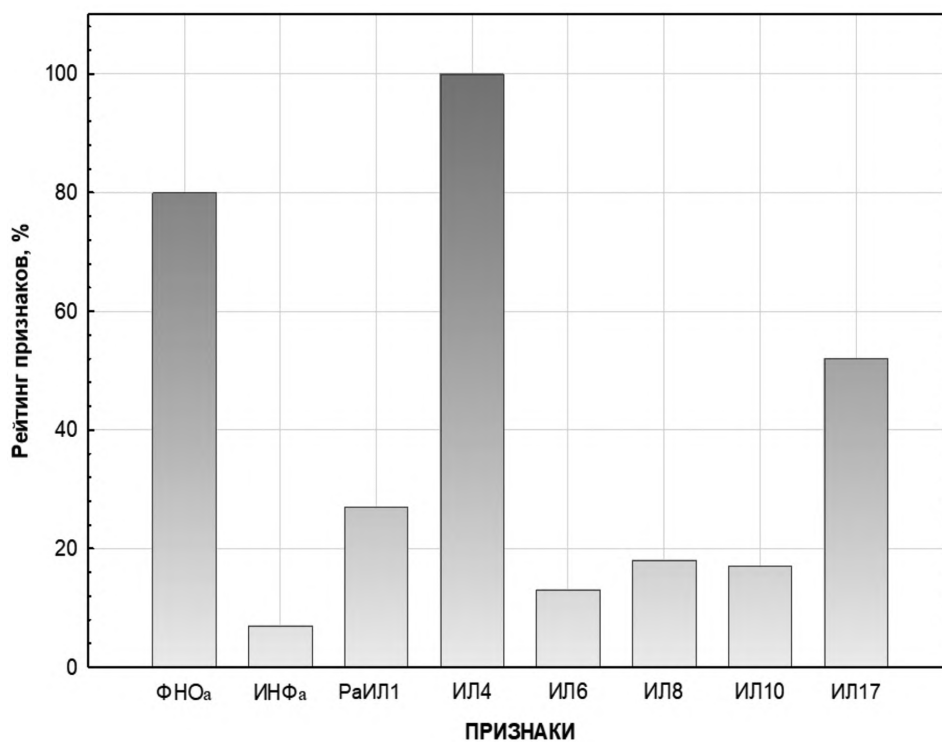


Рис. 3. Рейтинг информативных признаков формирования дерева решений.

держание провоспалительных – ИЛ-17, ИЛ-8, ФНО- α , ИНФ- α , ИЛ-6 и противовоспалительных – ИЛ-10, ИЛ-4, РаИЛ-1 цитокинов в спермоплазме) при диагностике бесплодия с применением двух методов многомерного статистического анализа удалось конкретизировать круг наиболее информативных показателей.

Обсуждение. Обсуждение накопленных данных по диагностике бесплодия у мужчин представляет известные трудности, связанные с большим разбросом и некоторой «пестротой» имеющихся материалов.

Основными источниками цитокинов, встречающихся в мужском репродуктивном тракте, являются семенники и, в частности, тестикулярные макрофаги, хотя некоторые цитокины (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α) в физиологических условиях также продуцируются интегральными тестикулярными соматическими клетками, такими, как клетки Лейдига и Сертоли [5–7]. Кроме того, в семенной плазме здоровых мужчин, независимо от наличия инфекций, могут присутствовать и другие цитокины, хемокины, рецепторы, включая ИЛ-2, ИЛ-4 – ИЛ-8, ИЛ-10 – ИЛ-13, ИЛ-17 и ИЛ-18 [8–10].

Следует отметить, что поддержание баланса между системным иммунитетом и «иммунопривилегированным» статусом гонад зависит, в частности, от функции цитокинов, выполняющих как роль провоспалительных медиаторов, так и их ингибиторов [11]. Функция ФНО- α отличается от остальных цитокинов, поскольку он действует на андрогенный рецептор, регулирующий активность тестостерона. Тем самым, цитокины семейства ФНО- α способствуют выживанию клеток в процессе сперматогенеза [12]. ФНО- α влияет на сперматогенез и функцию сперматозоидов с помощью нескольких путей, таких как снижение выработки тестостерона и/или регулирование доли гормонов в частях яичка (из клеток Сертоли). Кроме того, ФНО- α оказывает прямое влияние на подвижность сперматозоидов [7]. Таким образом, ФНО- α участвует в регуляции стероидогенеза, а также в выживании зародышевых клеток и секреторной функции клеток Сертоли и Лейдига.

Иммунному привилегированному статусу яичка наряду с другими механизмами способствуют тестикулярные клетки, такие как клетки Сертоли, клетки Лейдига, тестикулярные макрофаги и регуляторные Т-лимфоциты, продуцируя противовоспалительные цитокины и другие иммуносупрессивные факторы [13]. Тем самым, цитокины выполняют важную функцию в развитии и функционировании яичек, которые, в целом, связаны с фертильностью и ее патологией [14].

Как уже было показано, содержание ИЛ-1 β , ИЛ-4 и ИЛ-10 в семенной плазме тесно связано с репродуктивной способностью мужчин. Повышение или снижение этих цитокинов отражает состояние иммунитета и/или инфекцию репродуктивной системы, а также влияет на функцию сперматозоидов [15]. Однако многие исследования, посвященные влиянию цитокинов и факторов роста на функцию сперматозоидов, дали противоречивые результаты. Например, большинство исследователей предположили, что цитокины, обнаруженные в семенной плазме, связаны с лейкоцито-спермией и они не часто являются причиной аномалий сперматозоидов.

Полученные нами результаты с использованием двух доказательных методов многомерной статистики подчеркивают значимость отдельных групп цитокинов в течении хронического бактериального простатита и

развитии одного из его осложнений – бесплодия. Наиболее информативная роль (по данным значений дискриминантного корня Root1) для диагностики такого вида бесплодия оказалась у ИЛ-4 (более низкие уровни в спермоплазме бесплодных мужчин по сравнению с его содержанием у лиц с хроническим простатитом без нарушения фертильности) в сочетании с ИЛ-17 и ФНО- α (по данным значений дискриминантного корня Root1), хотя вклад ИЛ-17 и ФНО- α был менее значим. Диагностическая значимость снижения содержания в спермоплазме ИЛ-4 была установлена и с использованием метода «дерево решений», который показал причастность данного цитокина к формированию двух уровней и шести ветвей/листьев дерева решений.

В более ранних работах [15] также было показано, что содержание ИЛ-4 (наряду с ИЛ-10) в семенной плазме мужчин с нарушением фертильности было достоверно ниже, чем в группе здоровых. Это дало основание авторам заключить, что содержание ИЛ-4 и ИЛ-10 существенно связано со свойствами сперматозоидов, их влиянием на репродуктивную функцию мужчин и отражает состояние иммунитета и инфекционного процесса в указанном биотопе. Другие авторы [16] в качестве критериев иммунного прогноза обострения хронического простатита предлагали использовать такие маркеры, как ФНО- α и ИЛ-1 β , однако, нарушение фертильности в данных исследованиях не рассматривалось.

В работе S. Gupta, A. Kumar [13] отмечается, что между гипоталамо-гипофизарно-гонадной осью (ГГГ) и иммунной системой действуют двунаправленные связи. Инфекция или другие воспалительные стимулы приводят к активации врожденной иммунной системы, в частности, к активации макрофагов, это, в свою очередь, запускает серию событий, которые влияют на ось ГГГ на всех уровнях и оказывают пагубное влияние на мужские репродуктивные характеристики гонад. Нарушается секреция гонадотропинов, а также стероидогенез яичек и сперматогенез. Цитокины, продуцируемые во время воспаления, могут подавлять активность многих ферментов, участвующих в стероидогенезе, таких, как стероидогенный регуляторный белок StAR, и генов (*CYP11A1*, *HSD3B* и *HSD17B*), кодирующих стероидогенез в клетках Лейдига [13].

Заключение. В результате проведенного дискриминантного анализа был определен единственный дискриминантный корень, что подтверждает корректность проведенной клинической диагностики и достоверность дискриминантного метода. Поскольку исследуемых групп пациентов только две (ХП и ХПБП), они были успешно разделены одной многомерной линией.

Установлено, что оба примененных метода (дискриминантный анализ и дерева классификаций) не противоречат, а гармонично дополняют друг друга, определяя близкие наборы информативных признаков. Снижение значений ИЛ-4 в обоих методах сопровождалось возрастанием числа больных с мужским бесплодием, что доказательно подтверждает диагностическую значимость ИЛ-4 в исследовании этого процесса.

Проведенные исследования заслуживают дальнейшего продолжения для разработки методов скрининговой диагностики нарушений фертильности у мужчин. Использование двух методов многомерного анализа (ДА и метод деревьев) однозначно показало, что диагностическим маркером мужского бесплодия может служить ИЛ-4.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1 – 3, 5 – 15 см. REFERENCES)

4. Бухарин О.В., Кузьмин М.Д., Перунова Н.Б., Иванова Е.В., Бекперженова А.В., Бондаренко Т.А. Характеристика микробиоты и цитокинового профиля спермоплазмы у больных хроническим бактериальным простатитом. *Урология*. 2020; 5:67-72. DOI: 10.18565/urology.2020.5.67-72.
16. Разумов С.В., Медведев А.А., Чирун Н.В., Сивков А.В., Ощепков В.Н., Синухин В.Н. Роль цитокинов в диагностике хронического простатита. *Урология*. 2003; 6: 25-8. PMID: 14708240.

REFERENCES

1. Shiva M., Gautam A.K., Verma Y., Shivgotra V., Doshi H., Kumar S. Association between sperm quality, oxidative stress, and seminal antioxidant activity. *Clin. Biochem*. 2011; 44:319–24. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2010.11.009.
2. Renu K., Subramaniam M.D., Chakraborty R., Myakala H., Iyer M., Bharathi G. et al. The role of Interleukin-4 in COVID-19 associated male infertility – A hypothesis. *J. Reprod. Immunol*. 2020; 142:103213. DOI: 10.1016/j.jri.2020.103213.
3. Fan C., Li K., Ding Y., Lu W., Wang J. ACE2 Expression in Kidney and Testis May Cause Kidney and Testis Damage After 2019-nCoV Infection. *Frontiers in Medicine*. 2020. DOI: 10.3389/fmed.2020.563893.
4. Bukharin O.V., Kuzmin M.D., Perunova N.B., Ivanova E.V., Bekpergenova A.V., Bondarenko T.A. Characterization of the microbiota and cytokine profile of sperm plasma in men with chronic bacterial prostatitis. *Urologiya*. 2020; 5:67-72. (in Russian)
5. Guazzone V.A., Jacobo P., Theas M.S., Lustig L. Cytokines and chemokines in testicular inflammation: A brief review. *Microsc. Res. Tech*. 2009; 72(8):620-8. PMID: 19263422. DOI:10.1002/jemt.20704.
6. Allam J.P., Fronhoffs F., Fathy A., Novak N., Oltermann I., Bieber T. et al. High percentage of apoptotic spermatozoa in ejaculates from men with chronic genital tract inflammation. *Andrologiya*. 2008; 40:329–34. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2008.00864.x.

7. Qian L., Sun G., Zhou B., Wang G., Song J., He H. Study on the Relationship Between Different Cytokines in the Semen of Infertility Patients. *Am. J. of Reprod. Immunol*. 2011; 66:157-61. PMID: 21244563. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2010.00980.x.
8. Kokab A., Akhondi M.M., Sadeghi M.R., Modarresi M.H., Aarabi M., Jennings R. et al. Raised inflammatory markers in semen from men with asymptomatic chlamydial infection. *J. Androl*. 2010; 31(2):114-20. PMID: 19779210. DOI: 10.2164/jandrol.109.008300.
9. Martínez-Prado E., Camejo Bermúdez M.I. Expression of IL-6, IL-8, TNF-alpha, IL-10, HSP-60, anti-HSP-60 antibodies, and anti-sperm antibodies, in semen of men with leukocytes and/or bacteria. *Am. J. Reprod. Immunol*. 2010; 63(3):233-43. PMID: 20055787. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2009.00786.x.
10. Havrylyuk A., Chopyak V., Boyko Y., Kril I., Kurpysz M. Cytokines in the blood and semen of infertile patients. *Cent. Eur. J. Immunol*. 2015; 40(3):337-44. PMID: 26648778. DOI: 10.5114/ceji.2015.54596.
11. Jacobo P., Guazzone V.A., Theas M.S., Lustig L. Testicular autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2011; 10(4):201-4. PMID: 20932942. DOI: 10.1016/j.autrev.2010.09.026.
12. Cavalcanti M.C., Steilmann C., Failing K., Bergmann M., Kliesch S., Weidner W. et al. Apoptotic gene expression in potentially fertile and subfertile men. *Mol. Hum. Reprod*. 2011; 17(7):415-20. PMID: 21317160. DOI: 10.1093/molehr/gar011.
13. Gupta S., Kumar A. Immune System. In book: Basics of Human Andrology. Kumar A., Sharma M., eds. Singapore: Springer; 2017. DOI: 10.1007/978-981-10-3695-8_21.
14. Loveland K.L., Klein B., Pueschl D., Indumathy S., Bergmann M. et al. Cytokines in Male Fertility and Reproductive Pathologies: Immunoregulation and Beyond. *Front Endocrinol. (Lausanne)*. 2017; 8:307. PMID: 29250030. DOI: 10.3389/fendo.2017.00307.
15. Zhang J., Gao J. Determination of IL-1beta, IL-4 and IL-10 contents in the seminal plasma of infertile patients and its clinical value. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2004; 10(11):851-4. PMID: 15595690.
16. Razumov S.V., Medvedev A.A., Chirun N.V., Sivkov A.V., Oshchepkov V.N., Siniukhin V.N. Role of cytokines in the diagnosis of chronic prostatitis. *Urologiya*. 2003; 6:25-8. PMID: 14708240. (in Russian)