

Активность протеолитических ферментов и их ингибиторов в секрете простаты при доброкачественной гиперплазии и раке предстательной железы

М.И. Коган¹, Е.А. Черногубова², М.Б. Чибичян¹, Д.Г. Матишов²

¹НИИ урологии и нефрологии Ростовского государственного медицинского университета;

²Южный научный центр РАН, Ростов-на-Дону

Контакты: Михаил Иосифович Коган dept_kogan@mail.ru

Введение. Простатспецифический антиген (ПСА) является наиболее широко используемым сывороточным маркером при раннем выявлении рака предстательной железы (РПЖ). Однако специфичность теста низка и составляет около 20%.

Исследование регуляторных функций протеиназ и их ингибиторов в канцерогенезе перспективно с точки зрения создания методов ранней диагностики раковых заболеваний.

Цель исследования — анализ нарушений протеолитических процессов в секрете предстательной железы (ПЖ) при доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) и РПЖ на основе определения ключевых показателей калликреин-кининовой, ренин-ангиотензиновой систем и активности лейкоцитарной эластазы в секрете ПЖ.

Материалы и методы. Первую группу составили 20 пациентов с РПЖ (средний возраст $62,7 \pm 2,3$ года). Во 2-ю группу вошли 20 мужчин с ДГПЖ (средний возраст $62,2 \pm 1,4$ года). Контрольную группу составили 20 здоровых мужчин (средний возраст $35,6 \pm 4,5$ года). В секрете ПЖ у пациентов всех групп определяли показатели протеолитических систем организма: активность калликреина, содержание прекалликреина, ингибиторную активность α_1 -протеиназного ингибитора (α_1 -ПИ) и α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ), активность ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), эластазы и эластазоподобную активность.

Результаты. Сравнительный анализ особенностей нарушения протеолитических процессов при доброкачественных и злокачественных процессах в ПЖ показал, что при РПЖ в секрете ПЖ активность калликреина на 39,2% ($p < 0,001$) выше, а активность АПФ на 41,3% ($p < 0,001$) ниже, чем при ДГПЖ, что отражает, по-видимому, снижение содержания ангиотензина II в секрете ПЖ. Характерным для РПЖ является резкое увеличение ингибиторного потенциала секрета ПЖ, так активность α_1 -ПИ и α_2 -МГ в секрете ПЖ на 56,9% ($p < 0,001$) и 96,8% ($p < 0,001$) соответственно выше, чем при ДГПЖ. Выделены статистически 2 значимых критерия диагностики РПЖ — активность калликреина и АПФ со специфичностью и чувствительностью 75,0 и 66,7% соответственно.

Выводы. Выявлено нарушение баланса между протеиназами и их ингибиторами в секрете ПЖ при РПЖ и ДГПЖ, что является основой «биохимической индивидуальности» процессов онкотрансформации в ПЖ и может быть использовано в будущем в качестве маркера в диагностике РПЖ.

Ключевые слова: рак предстательной железы, доброкачественная гиперплазия, протеолитические ферменты и их ингибиторы, секрет предстательной железы

The activity of proteolytic enzymes and their inhibitors in the secretion of the prostate in its benign hyperplasia and cancer

M.I. Kogan¹, E.A. Chernogubova², M.B. Chibichyan¹, D.G. Matishov²

¹Research Institute of Urology and Nephrology, Rostov State Medical University;

²South Research Center, Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don

Background. Prostate-specific antigen is the most commonly used serum marker for the early detection of prostate cancer (PC). However, the specificity of the test is low and accounts for about 20%. The study of the regulatory functions of proteinases and their inhibitors in carcinogenesis is promising in terms of developing methods for the early cancer diagnosis.

Objective: to analyze impaired proteolytic processes in the secretion of the prostate in its benign hyperplasia (BPH) and PC, by determining the key indicators of the kallikrein-kinin and renin-angiotensin systems and the activity of leukocyte elastase in the prostatic secretion.

Subjects and methods. Group 1 included 20 patients with PC (mean age 62.7 ± 2.3 years). Group 2 comprised 20 men with BPH (mean age 62.2 ± 1.4 years). A control group consisted of 20 healthy men (mean age 35.6 ± 4.5 years). The prostatic secretions from the patients of all the groups were used to estimate the indicators of proteolytic systems: kallikrein activity, prekallikrein levels, the inhibitory activity of α_1 -proteinase inhibitor (α_1 -PI), and α_2 -macroglobulin (α_2 -MG), and the activity of angiotensin-converting enzyme (ACE) and elastase and elastase-like activity.

Results. Comparative analysis of the specific features of impaired proteolytic processes during benign and malignant prostate processes indicated that in PC the prostatic secretion showed a 39.2% increase in the activity of kallikrein ($p < 0.001$) and a 41.3% reduction in that of ACE ($p < 0.001$) as compared to those in BPH, which seems to reflect a decrease in prostatic secretion angiotensin II levels. PC is characterized by a drastic rise in the inhibitory potential of prostatic secretion; for the prostatic secretion activities of α_1 -PI and α_2 -MG are 56.9 ($p < 0.001$)

and 96.8% ($p < 0.001$) respectively, higher than those in BPH. There are 2 statistically significant criteria for PC diagnosis: the activity of kallikrein and ACE with 75.0% specificity and 66.7% sensitivity.

Conclusion. An imbalance between proteinases and their inhibitors has been found in the prostatic secretion in PC and BPH, which is the basis for biochemical individuality of cancer transformation processes in the prostate and may be used in future as a marker for the diagnosis of PC.

Key words: prostate cancer, benign hyperplasia, proteolytic enzymes and their inhibitors, prostatic secretion

Введение

Простатспецифический антиген (ПСА) является наиболее широко используемым сывороточным маркером, используемым при раннем выявлении рака предстательной железы (РПЖ), его введение в клиническую практику радикально повлияло на терапию этой болезни [1]. Однако содержание ПСА в сыворотке крови часто увеличено при доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) и простатите, что снижает специфичность теста, особенно при низких концентрациях ПСА [2]. Только у 20–30 % мужчин с уровнем ПСА 2–4 нг/мл и у 30–45 % с уровнем ПСА 4–10 нг/мл при игольчатой биопсии предстательной железы (ПЖ) диагностируется рак [3–5]. Ввиду этих ограничений рекомендуется учитывать соотношение свободного и общего ПСА, плотность ПСА, скорость нарастания ПСА, что значительно повышает детекцию РПЖ. Однако при ориентации на совокупность показателей ПСА низкая выявляемость РПЖ остается значимой медицинской проблемой [6]. В связи с этим разрабатываются другие направления исследований по дифференциальной диагностике РПЖ и ДГПЖ, в частности изучение характеристик секрета ПЖ. Так, разработан новый диагностический тест – РСА3 [7]. Его использование рекомендуется как раз в той зоне сывороточного ПСА, когда наиболее затруднительна диагностика РПЖ – 4–10 нг/мл.

Проявляется интерес и к изучению протеолитических ферментов при неопластическом поражении ПЖ, так как они участвуют в процессах роста и деления клеток, ангиогенезе, деградации соединительнотканых структур при инвазии опухолевых клеток и метастазировании [8–11]. Исследователи исходят из того, что накопление молекулярно-биологических изменений в ткани ПЖ при ДГПЖ и РПЖ формирует некую «генетическую совокупность», которая определяет «биохимические индивидуальности» опухоли

и гиперплазии. Таким образом, именно исследование регуляторных функций протеиназ и их ингибиторов в канцерогенезе представляется в настоящее время одним из наиболее перспективных путей исследования с точки зрения создания методов ранней диагностики раковых заболеваний и выбора мишеней антираковой терапии.

Цель настоящего исследования – анализ нарушений протеолитических процессов в секрете ПЖ при ДГПЖ и РПЖ на основе определения ключевых показателей калликреин-кининовой, ренин-ангиотензиновой систем и активности лейкоцитарной эластазы в секрете ПЖ.

Материалы и методы

В 1-ю группу включили 20 пациентов с аденокарциномой ПЖ (табл. 1). У 10 пациентов с локальным РПЖ (Т1b – 4, Т1c – 5, Т2a,b – 1 больной), выявленным при игольчатой биопсии ПЖ, была выполнена радикальная простатэктомия (РПЭ), выявившая pT2a–c. Средний уровень ПСА в сыворотке крови составил 14,23 нг/мл (4–37 нг/мл). Сумма баллов по шкале Глисона (индекс Глисона) варьировала от 4 до 7. У 10 пациентов диагностирован местнораспространенный РПЖ (Т3a – 7, Т3b – 1, Т4 – 2 пациента) по данным игольчатой биопсии ПЖ. Объем поражения опухолью биоптата – 70–100 %. Индекс Глисона варьировал от 6 до 10 баллов. Средний уровень ПСА в сыворотке крови составил $43,7 \pm 14,2$ (3,0–100) нг/мл.

Во 2-ю группу включены 20 мужчин с ДГПЖ. Средний уровень ПСА в сыворотке крови равнялся $3,8 \pm 0,5$ (0,7–7,0) нг/мл. Диагноз ДГПЖ был установлен клинически и подтвержден морфологическими результатами пункционной биопсии ПЖ либо исследованиями образцов ткани после трансуретральной резекции (ТУР) ПЖ. Средний объем ПЖ по данным чрескожной ультрасонографии составил

Таблица 1. Клиническая характеристика больных

Диагноз (n)	Средний возраст, годы	ПСА, нг/мл				Объем ПЖ, см ³		Индекс Глисона		
		<2,5	2,5–4,0	4,0–10,0	>10,0	<60	>60	≤5	5–6	≥7
РПЖ (Т1–2) (n=10)	62,7 ± 2,3	0	1	2	7	4	6	1	6	3
РПЖ (Т3) (n=10)	64,7 ± 2,4	0	1	2	7	3	7	0	1	9
ДГПЖ (n=20)	62,2 ± 1,4	3	2	10	5	10	10	–	–	–

$68,5 \pm 6,3 \text{ см}^3$ ($40-114 \text{ см}^3$). Контрольную группу составили 20 практически здоровых мужчин (средний возраст $35,6 \pm 4,5$ года).

В секрете ПЖ определяли следующие показатели протеолитических систем организма: активность калликрейна (КФ 3.4.21.8) и содержание прекаликрейна после отделения от других сериновых протеиназ с помощью ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-сефадексе А-50 по скорости гидролиза N-бензоил-L-аргинин этилового эфира (БАЭЭ) [12]; ингибиторную активность α_1 -протеиназного ингибитора (α_1 -ПИ) и α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ) унифицированным энзиматическим методом [13]; активность кининазы II (ангиотензинпревращающего фермента – АПФ, КФ 3.4.15.1) с использованием в качестве субстрата фурилакрилолфенилаланилглицилглицина [14], общую аргинин-эстеразную активность по отношению к БАЭЭ [15]; активность эластазы и эластазоподобную активность по скорости гидролиза N-третбутоксикарбонил-аланин-р-нитрофенилового эфира (ВОС-Ala-ONp) [16].

Статистический анализ проводили с использованием U-критерия Манна–Уитни, коэффициента корреляции Спирмена, дискриминантного анализа с применением программы Statistica 6.1 [17].

Результаты

В секрете ПЖ при РПЖ отмечена активация протеолиза, о чем свидетельствует увеличение активности калликрейна и общей аргинин-эстеразной активности на $364,6\%$ ($p_a^* < 0,001$) и $88,1\%$ ($p_a < 0,001$) соответственно по сравнению с таковыми в контрольной группе (табл. 2). Содержание предшественника калликрейна – прекаликрейна не отличается от значе-

ний в контрольной группе. Общая эластазоподобная активность секрета ПЖ и активность лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) при РПЖ на $43,6\%$ ($p_a < 0,001$) и $53,9\%$ ($p_a < 0,001$) соответственно выше, чем у включенных в контрольную группу. Увеличена активность АПФ на $56,7\%$ ($p_a < 0,001$) по сравнению с таковой в контрольной группе. Активность поливалентных ингибиторов сериновых протеиназ α_1 -ПИ и α_2 -МГ в секрете ПЖ на $818,3\%$ ($p_a < 0,001$) и $171,8\%$ ($p_a < 0,001$) соответственно также выше, чем в группе здоровых мужчин.

О формировании «патологического» гомеостаза в секрете ПЖ при РПЖ свидетельствует наличие большого числа корреляционных связей между изученными показателями протеолиза. Так, отмечена умеренная корреляционная связь между активностью АПФ и калликрейном ($r=0,6347$, $p < 0,05$), активностью АПФ и содержанием прекаликрейна ($r=0,5758$, $p < 0,05$), активностью АПФ и общей аргинин-эстеразной активностью ($r=0,5788$, $p < 0,05$). О регулирующем влиянии ингибиторов на протеолитические процессы в секрете ПЖ свидетельствует наличие корреляционных связей между α_1 -ПИ и прекаликрейном ($r=0,7172$, $p < 0,05$), ингибиторной активностью α_2 -МГ и эластазоподобной активностью ($r=0,5424$, $p < 0,05$).

Секрет ПЖ при ДГПЖ, также как и при РПЖ, характеризуется интенсификацией кининогенеза, что подтверждается увеличением активности калликрейна и общей аргинин-эстеразной (трипсиноподобной) активности на $233,6\%$ ($p_a < 0,001$) и $132,2\%$ ($p_a < 0,001$) соответственно по сравнению с аналогичными показателями у здоровых мужчин. О контроле кининогенеза со стороны пула ингибиторов свидетельству-

Таблица 2. Активность протеолитических ферментов и их ингибиторов в секрете ПЖ, $M \pm m$

Показатель	Контрольная группа, $n=20$	1-я группа (РПЖ), $n=20$	2-я группа (ДГПЖ), $n=20$
Активность калликрейна, Мед/мл	$5,62 \pm 1,49$	$26,11 \pm 2,63^a$	$18,75 \pm 2,94^{ab}$
Содержание прекаликрейна, Мед/мл	$273,52 \pm 12,29$	$247,33 \pm 15,21$	$264,99 \pm 12,20$
Общая аргининэстеразная активность, Мед/мл	$18,96 \pm 3,68$	$35,67 \pm 4,56^a$	$44,02 \pm 11,90^a$
Активность α_2 -макроглобулина, ИЕ/мл	$0,160 \pm 0,05$	$0,435 \pm 0,050^a$	$0,221 \pm 0,046^b$
Активность α_1 -протеиназного ингибитора, ИЕ/мл	$2,29 \pm 0,61$	$18,74 \pm 2,13^a$	$11,94 \pm 0,78^{ab}$
Активность ангиотензинпревращающего фермента, мкМ/мин/л	$18,89 \pm 4,03$	$29,61 \pm 3,28^a$	$50,43 \pm 6,30^{ab}$
Эластазоподобная активность, нМ/мин/мл	$61,33 \pm 7,99$	$88,10 \pm 4,62^a$	$70,66 \pm 8,12$
Активность лейкоцитарной эластазы, нМ/мин/мл	$0,412 \pm 0,056$	$0,634 \pm 0,064^a$	$0,493 \pm 0,060$

Примечание. ^a – достоверность отличий показателей пациентов 1-й и 2-й групп от таковых в контрольной группе, $p < 0,05$;

^b – достоверность отличий показателей пациентов 1-й группы от таковых во 2-й группе, $p < 0,05$.

* p_a – достоверность отличий между показателями 1-й, 2-й групп и таковыми контрольной группы.

ет увеличение ингибиторной активности α_1 -ПИ на 421,4% ($p_a < 0,001$) и сохранение активности α_2 -МГ на уровне контрольных величин. Отмечено увеличение активности АПФ на 267,0% ($p_a < 0,001$) относительно нормы. В то же время эластазоподобная активность и активность ЛЭ в секрете ПЖ не отличаются от таковых в контрольной группе.

Сильные корреляционные связи между показателями протеолитических систем в секрете ПЖ при ДГПЖ отсутствуют. Имеют место умеренные прямые корреляционные связи между активностью ЛЭ и α_1 -ПИ ($r = 0,7381$, $p < 0,05$), активностью АПФ и α_2 -МГ ($r = 0,7143$, $p < 0,05$), эластазоподобной и трипсиноподобной активностью секрета ПЖ ($r = 0,6766$, $p < 0,05$), а также обратные корреляционные связи между активностью калликреина и α_1 -ПИ ($r = -0,6190$, $p < 0,05$), активностью калликреина и ЛЭ ($r = -0,6566$, $p < 0,05$).

Сравнительный анализ особенностей нарушения протеолитических процессов при доброкачественных и злокачественных процессах в ПЖ показал, что при РПЖ в секрете ПЖ активность калликреина на 39,2% ($p_b^* < 0,001$) выше, а активность АПФ на 41,3% ($p_b < 0,001$) ниже, чем при ДГПЖ, что отражает, по-видимому, снижение содержания ангиотензина II в секрете ПЖ. Характерным для РПЖ является резкое увеличение ингибиторного потенциала секрета ПЖ; так, активность α_1 -ПИ и α_2 -МГ в секрете ПЖ на 56,9 ($p_b < 0,001$) и 96,8% ($p_b < 0,001$) соответственно выше, чем при ДГПЖ.

Дискриминантный анализ позволил выделить 2 наиболее статистически значимых критерия диагностики РПЖ — это активность калликреина и АПФ. Одновременное определение активности калликреина и АПФ в секрете ПЖ при РПЖ обладает специфичностью и чувствительностью 75,0 и 66,7% соответственно.

Обсуждение

Способность к метастазированию и инвазии — одно из фундаментальных свойств злокачественных опухолей, важнейшим механизмом реализации которого является разрушение ассоциированными с опухолью протеолитическими ферментами окружающей базальной мембраны и внеклеточного матрикса и участие их в неоангиогенезе [9, 18]. Известно, что прорастание опухоли в окружающие ткани сопровождается локальной секрецией опухолевыми клетками протеолитических ферментов, расщепляющих белки межклеточного матрикса; тем самым создаются благоприятные условия для инвазии [9]. В этой связи заслуживает особого внимания обнаруженное нами увеличение эластазоподобной активности секрета

ПЖ при РПЖ. Эластин — не единственный белковый субстрат эластазы, она способна также гидролизировать коллагены III, VI и VIII генетических типов, интегрины, протеогликаны, гистоны, основной белок миелина, гемоглобин и множество белков плазмы крови, в том числе факторы гемокоагуляции, фибринолиза, калликреин-кининовой системы и комплемента [19–21]. ЛЭ участвует также в активации матричных протеиназ (ММП-2), катепсина G, протеиназы-3, участвующих в клеточной инвазии и метастазировании [21]. Таким образом, увеличение эластолитического потенциала секрета ПЖ имеет значение в протеолитической дегградации компонентов экстрацеллюлярного матрикса, нарушении базальной мембраны и, как следствие, способствует процессам клеточной инвазии и метастазирования при РПЖ.

Кроме того, эластаза расщепляет плазминоген с образованием ангиостатина — мощного ингибитора ангиогенеза и метастазов. Взаимодействие между ангиостатином, плазминогеном, активатором плазминогена, эластазой и ангиогенином, очевидно, представляет собой регуляторную систему, способную обеспечить равновесие между ангиогенезом и антиангиогенезом [22, 23]. Рост и регресс микрососудистого русла в ПЖ являются результатом баланса позитивных и негативных регуляторов ангиогенеза, аналогично происходящему в опухоли. Одна из причин накопления ангиостатина в ткани ПЖ при РПЖ, возможно, заключается в отмеченном нами увеличении активности ЛЭ в секрете ПЖ при РПЖ.

Как известно, на активность протеиназ влияет не только скорость их образования, но и их инактивация специфическими ингибиторами. Повреждающее действие ЛЭ в отношении белков ткани и плазмы крови происходит несмотря на быстрое связывание освобождающегося фермента ингибиторами плазмы крови: α_1 -ПИ и отчасти α_2 -МГ. Нами выявлено, что у больных РПЖ резко увеличивается ингибиторный потенциал секрета ПЖ. Так, активность α_1 -ПИ и α_2 -МГ в секрете ПЖ в 8,2 ($p_a < 0,001$) и 2,7 раза ($p_a < 0,001$) соответственно выше, чем у здоровых мужчин, и в 1,6 и 2,0 раза ($p_b < 0,001$) выше аналогичных показателей при ДГПЖ. Основной эндогенный регулятор эластазоподобной активности секрета ПЖ α_1 -ПИ обуславливает его антипротеолитический ингибиторный потенциал. Ранее было установлено, что по мере опухолевого развития может изменяться и активность α_2 -МГ, который, взаимодействуя с факторами роста и дифференцировки клеток, способствует прогрессии опухоли [24, 25]. Способность опухолевых клеток при инвазии в окружающие ткани вызывать частичную дегградацию соединительно-

* p_b — достоверность отличий между показателями 1-й и 2-й групп.

тканых структур реализуется за счет активности ряда протеиназ: цистеиновых, сериновых, аспарагиновых и металлопротеиназ. α_2 -МГ участвует в регуляции активности всех 4 классов протеиназ. Макроглобулины служат транспортерами регуляторных цитокинов к клеткам, участвуют в процессе и презентации антигенов, в передаче сигнала к клетке и в запуске каскада внутриклеточных реакций, влияют на антигеногенез [25]. α_1 -ПИ, напротив, является эндогенным ингибитором продукции цитокинов [26]. Кроме того, макроглобулины в зависимости от конформационного состояния модулируют деление и апоптоз клеток, процессы свертывания крови, ремоделирования тканей [24–26]. Ведущую роль в реализации регуляторных функций макроглобулинов играет количество и распространенность их рецепторов на клетках. Макроглобулины имеют наибольший аффинитет к основному рецептору эндцитоза и сигнальным рецепторам, присутствующим практически повсеместно, что позволяет им принимать активное участие в развитии воспалительных, аутоиммунных и онкопролиферативных заболеваний [25].

Особое внимание в последние годы привлечено к ренин-ангиотензиновой системе и ее роли в развитии неопластической трансформации [27, 28]. Обсуждаются данные о низкой распространенности РПЖ среди пациентов с гипертензией, принимавших блокаторы АПФ и рецепторов ангиотензина II, что свидетельствует об участии ренин-ангиотензиновой системы в развитии РПЖ [29, 30]. АПФ — это Zn-зависимая протеиназа, участвующая в метаболизме важнейших вазоактивных пептидов ренин-ангиотензиновой и калликреин-кининовой систем — ангиотензина II и брадикинина. Ангиотензин II не только играет ведущую роль в регуляции кровяного давления и поддержании водно-электролитного гомеостаза, но и является физиологическим фактором роста клеток, обладает митогенными свойствами и тем самым стимулирует гиперплазию и пролиферацию клеток [31]. Выявленное нами увеличение активности АПФ в се-

крете ПЖ как при РПЖ, так и при ДГПЖ косвенно свидетельствует о накоплении ангиотензина II в ПЖ.

Калликреин-кининовая система, будучи антагонистом ренин-ангиотензиновой системы, контролирует множество различных биологических процессов, в том числе связанных с развитием острого и хронического воспаления, неопластических процессов [8, 32]. Особое внимание уделяется участию плазменных и особенно тканевых калликреинов в регуляции пролиферации клеток и развитии опухолевых процессов, так как, активируя другие протеазы, а также ростовые, ангиогенные и антиангиогенные факторы, они способны как стимулировать, так и ингибировать пролиферацию малигнизированных клеток, клеточную инвазию, метастазирование, ангиогенез и протеолитическую деградацию компонентов экстрацеллюлярного матрикса в зоне локализации опухоли [32–34]. Обнаруженное нами у больных РПЖ резкое увеличение калликреиноподобной активности в секрете ПЖ по сравнению с таковой у здоровых мужчин и у пациентов с ДГПЖ косвенно свидетельствует о накоплении брадикинина, который также активно стимулирует ангиогенез [33, 35].

Заключение

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о нарушении баланса между протеиназами и их ингибиторами в секрете ПЖ, которое служит метаболической основой формирования «биохимической индивидуальности» процессов онкогенной трансформации при развитии РПЖ и ДГПЖ. Анализ молекулярных механизмов регуляции протеолитических систем организма при РПЖ позволит уточнить роль протеиназ и их ингибиторов в развитии неопластических процессов в ПЖ и на этой основе, возможно, выявить информативные предикторы и маркеры РПЖ, что позволит улучшить диагностику злокачественных опухолей ПЖ, более точно оценивать распространенность процесса и проводить более тщательный мониторинг течения заболевания и эффективности лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Catalona W.J., Smith D.S., Ratliff T.L. et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 1991;324:1156–61.
2. Tchetgen M.B., Oesterling J.E. The effect of prostatitis, urinary retention, ejaculation, and ambulation on the serum prostate-specific antigen concentration. *Urol Clin North Am* 1997;24:283–91.
3. Emiliozzi P., Longhi S., Scapone P. et al. The value of a single biopsy with 12 transperineal cores for detecting prostate cancer in patients with elevated prostate-specific antigen. *J Urol* 2001;166:845–91.
4. Okihara K., Fritsche H.A., Ayala A. et al. Can complexed prostate-specific antigen and prostatic volume enhance prostate cancer detection in men with total prostate-specific antigen between 2.5, and 4.0 ng/ml. *J Urol* 2001;165:1930–6.
5. Roehl K.A., Antenor J.A., Catalona W.J. Robustness of free prostate-specific antigen measurements to reduce unnecessary biopsies in the 2.6 to 4.0 ng/ml range. *J Urol* 2002;168:922–5.
6. Schroder F.H., van der Crujisen-Koeter I., de Koning H.J. et al. Prostate cancer detection at low prostate-specific antigen. *J Urol* 2000;163(3):806–12.
7. Chun F.K., de la Taille A., van Poppel H. et al. Prostate Cancer Gene 3 (PCA3): development and integration of new nomograms biopsy. *Eur Urol* 2009;56(4):659–68.
8. Яровая Г.А. Биорегулирующие функции и патогенетическая роль протеолиза. *Лаб мед* 2003;6:48–54.
9. Сидоренко Ю.С., Мусиенко Н.В., Франциянц Е.М. Некоторые показатели

- активности протеолитической системы в ткани злокачественной опухоли и перифокальной зоны при различных локализациях рака. Вестн ЮНЦ РАН 2007;3(3):93–8.
10. Overall C.M., Dean R.A. Degradomics: systems biology of the protease web. Pleiotropic roles of MMPs in cancer. *Canc Metast Rev* 2006;25(1):69–75.
11. Sloane B.F., Sameni M., Podgorski I. et al. Functional imaging of tumor proteolysis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2006;46:301–15.
12. Пасхина Т.С., Кринская А.В. Упрощенный метод определения калликреиногена и калликреина в сыворотке (плазме) крови человека в норме и при некоторых патологических состояниях. *Вопр мед хим* 1974;20(6):660–3.
13. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. Унифицированный метод определения активности α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека. *Вопр мед хим* 1979;25(4):494–502.
14. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Экспресс-метод определения активности ангиотензинпревращающего фермента в сыворотке крови. *Клин лаб диагност* 1998;1:11–3.
15. Пасхина Т.С., Яровая Г.А. Калликреин сыворотки крови человека. Активность фермента и хроматографический метод определения. *Биохимия* 1970;35(5):1055–8.
16. Доценко В.Л., Нешкова Е.А., Яровая Г.А. Выявление лейкоцитарной эластазы человека из комплекса с плазменным α_1 -протеиназным ингибитором по ее энзиматической активности с синтетическим субстратом. *Вопр мед хим* 1994;40(3):25–31.
17. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М., МедиаСфера, 2002.
18. DeVries T.J., van Muijen G.N., Ruiter D.J. The plasminogen activation system in tumour invasion and metastasis. *Pathol Res Pract* 1996;192:718–33.
19. Sato T., Takahashi S., Mizumoto T. et al. Neutrophil elastase and cancer. *Surg Oncol* 2007;15(4):217–22.
20. Sato T., Yoshida M., Satoshi T. et al. Neutrophil elastase inhibition: a new cancer therapy. *Current Enzyme Inhibition* 2008;4(2):82–5.
21. Shamamian P., Schwartz J.D., Pocock B.J. et al. Activation of progelatinase A (MMP-2) by neutrophil elastase, cathepsin G, and proteinase-3: a role for inflammatory cells in tumor invasion and angiogenesis. *J Cell Physiol* 2001;189(2):197–206.
22. Спирина Л.В. Ангиостатин как маркер неоангиогенеза при злокачественных новообразованиях. *Сиб онкол журн* 2007;2:102–3.
23. Perri S., Martineau D., Francois M. et al. Plasminogen kringle 5 blocks tumor rogression by antiangiogenic and proinflammatory pathways. *Mol Cancer Ther* 2007;2(6):441–9.
24. Lin V.K., Wang S.-Y., Boetticher N.C. et al. Alpha(2) macroglobulin, a PSA-binding protein, is expressed in human prostate stroma. *Prostat* 2005;63:299–308.
25. Зорин Н.А., Зорина В.Н., Зорина Р.М. Роль белков семейства макроглобулинов в регуляции опухолевого роста. *Онтогенез* 2006;1(37):12–9.
26. Pott G.B., Chan E.D., Dinarello C.A., Shapiro L. α_1 -Antitrypsin is an endogenous inhibitor of proinflammatory cytokine production in whole blood. *J Leukoc Biol* 2009;85:886–95.
27. Lindberg H., Nielsen D., Jensen B.V. et al. Angiotensin converting enzyme inhibitors for cancer treatment? *Acta Oncol* 2004;43(2):142–52.
28. Domińska K., Lachowicz-Ochedalska A. The involvement of the renin-angiotensin system (RAS) in cancerogenesis. *Postepy Biochem* 2008;54(3):294–300.
29. Ronquist G., Rodriguez L.A., Ruigómez A. et al. Association between captopril, other antihypertensive drugs and risk of prostate cancer. *Prostate* 2004;58(1):50–6.
30. Uemura H., Kubota Y. Role of renin-angiotensin system in prostate cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 2009;36(8):1228–33.
31. Uemura H., Kubota Y. Application of angiotensin II receptor blocker in prostate cancer. *Nippon Rinsho* 2009;67(4):807–1.
32. Sainz I.M., Pixley R.A., Colman R.W. Fifty years of research on the plasma kallikrein-kinin system: from protein structure and function to cell biology and in-vivo pathophysiology. *Thromb Haemost* 2007;98(1):77–83.
33. Colman R.W. Regulation of angiogenesis by the kallikrein-kinin system. *Curr Pharm* 2006;12(21):2599–607.
34. Steuber T., Vickers A.J., Serio A.M. et al. Comparison of free and total forms of serum human kallikrein 2 and prostate-specific antigen for prediction of locally advanced and recurrent prostate cancer. *Clin Chem* 2007;53(2):233–40.
35. Clements J., Mukhtar A. Tissue kallikrein and the bradykinin B2 receptor are expressed in endometrial and prostate cancers. *Immunopharmacology* 1997;36(2–3):217–20.