

УДК 612.015:616.65-002-07

МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ В КРОВИ И СЕКРЕТЕ ПРОСТАТЫ ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ХРОНИЧЕСКОЙ ТАЗОВОЙ БОЛИ

© 2011 г. Е.А. Черногубова

Ростовский государственный медицинский университет,
пер. Нахичеванский, 29, г. Ростов н/Д, 344022,
okt@rostgmu.ru

Rostov State Medical University,
Nakhichevanskiy Lane, 29, Rostov-on-Don, 344022,
okt@rostgmu.ru

При различных заболеваниях мужской репродуктивной системы, особенно при воспалительном процессе в предстательной железе, отмечаются изменения протеолиза. Цель нашего исследования изучить некоторые показатели протеолитических систем в крови и секрете простаты у больных с синдромом хронической тазовой боли (СХТБ) (активность калликреина, α_1 -протеиназного ингибитора и α_2 -макроглобулина, общую аргинин-эстеразную и эластазоподобную активность, содержание прекалликреина). СХТБ характеризуется дисбалансом в системе протеиназы и их ингибиторы в крови и секрете простаты. Определение некоторых показателей протеолиза может играть роль в дифференциальной диагностике воспалительной и невоспалительной форм СХТБ.

Ключевые слова: воспаление, протеолитические ферменты и их ингибиторы, синдром хронической тазовой боли.

At various disease of male reproductive system, especially, at inflammatory process of the prostate, we observe a change in proteolyses. The purpose of our research was to study some parameters of proteolytic systems in blood and secretion of prostate at patients with chronic pelvic pain syndrome (CPPS) (activity kallikrein, α_1 -proteinase inhibitor and α_2 -macroglobulin, total arginine-esterase activity, elastase-like activity, concentration of prekallikrein). CPPS is characterized by an imbalance in system of proteolytic enzymes and their inhibitors in the blood and secretion of prostate. Definition of some parameters of proteolysis in blood and secretion of prostate can play a role in the differential diagnostics of inflammation and non-inflammation forms CPPS.

Keywords: inflammation, proteolytic enzymes and their inhibitors, chronic pelvic pain syndrome.

Хронический простатит является самым распространенным андрологическим заболеванием, поражающим наиболее трудоспособную часть мужской популяции в возрасте от 20 до 40 лет, достигая по частоте встречаемости 35–40 % [1, 2]. Однако, его этиология, патогенез и патофизиология остаются неясными. В соответствии с классификацией Национального института здравоохранения США это заболевание определяется как хронический абактериальный простатит/синдром хронической тазовой боли (ХАП/СХТБ). Выделяют две формы СХТБ: воспалительную – СХТБ IIIA и невоспалительную – СХТБ IIIB [3].

Активация протеолиза и одной из важнейших протеолитических систем организма – калликреин-кининовой системы (ККС) приобретает ключевое значение при воспалении. Согласованное действие протеаз и их ингибиторов – одна из форм поддержания гомеостаза в организме, а сложная и многокомпонентная последовательность реакций при этом рассматривается как универсальный неспецифический ответ на повреждение. Калликреин – полифункциональная протеиназа, контролирующая множество биологических процессов, в том числе конвертирует белок-предшественник кининоген в брадикинин – «медиатор» боли и воспаления. Кроме того, калликреин вызывает хемотаксис и агрегацию нейтрофилов, освобождает эластазу, активирует латентную форму коллагеназы нейтрофилов. Активность калликреина и других протеиназ регулируется с помощью специальных белков – ингибиторов сериновых протеиназ, среди которых в наибольшем количестве в плазме крови присутствуют α_1 -протеиназный ингибитор, основная функция которого инактивация нейтрофильной эластазы, и α_2 -макроглобулин, связывающий тромбин,

плазмин, калликреин, эластазу и другие протеолитические ферменты [4, 5].

Механизмы формирования воспалительной реакции в простате, а также защитные факторы, ограничивающие процесс повреждения, до конца не изучены.

Целью нашего исследования является анализ молекулярных механизмов регуляции протеолитических систем организма при воспалении, выявление маркеров воспаления в крови и секрете простаты при разных формах СХТБ.

Материал и методы

Для выявления особенностей нарушения протеолитических процессов в предстательной железе при разных формах синдрома хронической тазовой боли у мужчин в исследование были включены 44 больных с воспалительной (СХТБ IIIA) и 32 – с невоспалительной (СХТБ IIIB) формами СХТБ в возрасте от 18 до 50 лет с длительностью заболевания от 5 до 14 лет. Из исследования были исключены больные с острыми урогенитальными воспалительными процессами, инфекциями, передающимися половым путем; другими заболеваниями органов таза, сопровождающимися болевым синдромом; наличием в анамнезе неврологических расстройств; заболеваниями нижних отделов позвоночника и тазобедренных суставов; декомпенсированными состояниями других органов и систем. Контрольную группу составили 36 практически здоровых мужчин.

Определяли активность калликреина (КФ 3.4.21.8) и содержание прекалликреина после отделения от других сериновых протеиназ с помощью ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-сефадексе А-50 по скорости гидролиза N-бензил-1-аргинин этилового эфира (БАЭЭ) [6], общую аргинин-эстеразную активность по отношению к БАЭЭ, характеризующую активность

трипсиноподобных протеиназ [7], эластазоподобную активность по скорости гидролиза N-третбутоксикарбонил-аланин-р-нитрофенилового эфира [8], ингибиторную активность α_1 -протеиназного ингибитора (α_1 -ПИ) и α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ) унифицированным энзиматическим методом [9] в сыворотке крови и секрете простаты (после его разведения в соотношении 1:9 физиологическим раствором).

Обработку полученных данных проводили общепринятыми методами медицинской статистики с использованием U-критерия Манна-Уитни с применением пакета прикладных программ Statistica 6.1. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p < 0,05$ [10].

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования показали, что при воспалительной форме СХТБ в сыворотке крови отмечается увеличение активности калликреина на 69,0 % ($p_a < 0,001$) по сравнению с таковой в контрольной группе. Содержание прекалликреина и ингибиторная активность α_2 -макроглобулина не отличаются от соответствующих показателей в контрольной группе. Суммарная активность трипсиноподобных протеиназ сыворотке крови больных с воспалительной формой СХТБ на 17,6 % ($p_a < 0,05$) ниже таковой в контрольной группе. Об интенсивности воспалительного процесса в простате при СХТБ IIIA свидетельствует увеличение ингибиторной активности α_1 -протеиназного ингибитора – «белка острой фазы воспаления» и активности лейкоцитарной эластазы в сыворотке крови на 33,9 % ($p_a < 0,001$) и 100,6 ($p_a < 0,001$) соответственно.

При невоспалительной форме СХТБ в сыворотке крови отмечено увеличение активности калликреина на 258,3 % ($p_a < 0,001$) на фоне снижения содержания его профермента – прекалликреина на 20,2 % ($p_a < 0,05$), что свидетельствует об истощении адаптивного потенциала ККС. Общая аргинин-эстеразная активность и ингибиторная активность α_1 -протеиназного ингибитора в сыворотке крови больных с невоспалительной формой СХТБ не отличаются от таковых в контрольной группе. Однако увеличение эластолитической активности крови на 148,2 % ($p_a < 0,001$) при СХТБ IIIB свидетельствует об увеличении дегрануляционной активности лейкоцитов, что отражает особенности развития воспалительного процесса при «невоспалительной» форме заболевания. Обращает на себя внимание и снижение на 35,0 % ($p_a < 0,05$) ингибиторной активности α_2 -МГ, что, по-видимому, связано со способностью α_2 -МГ выводить активированные ферменты протеолиза из кровотока.

Таким образом, при невоспалительной форме СХТБ активация протеолиза в сыворотке крови выражена сильнее, чем при СХТБ IIIA. Так, активность калликреина, общая аргинин-эстеразная и эластолитическая активность в сыворотке крови при СХТБ IIIB на 112,0 ($p_b < 0,001$), 21,6 ($p_b < 0,001$) и 23,7 % ($p_b < 0,001$) выше, чем при СХТБ IIIA. Об интенсификации протеолитических процессов в сыворотке крови при невоспалительной форме СХТБ свидетельствует и ослабление контроля над активностью протеаз со стороны пула ингибиторов. Так, ингибиторная активность α_2 -МГ и α_1 -ПИ при невоспалительной форме

СХТБ на 29,6 ($p_b < 0,001$) и 27,0 % ($p_b < 0,001$) ниже, чем при воспалительной.

Результаты исследования показали, что при СХТБ боли независимо от формы заболевания в сыворотке крови отмечена активация ККС, что приводит к накоплению брадикинина – «медиатора» боли и воспаления. Следствием массивного кининогенеза является развитие комплекса патофизиологических нарушений, обусловленных гиперпродукцией брадикинина: боль, расстройства гемодинамики, нарушения микроциркуляции, увеличение сосудистой проницаемости [5].

У больных с воспалительной формой СХТБ IIIA в секрете простаты отмечена резкая активация протеолиза, о чём свидетельствует увеличение калликреиноподобной, общей аргинин-эстеразной и эластазоподобной активности на 861,6 ($p_a < 0,001$), 244,3 ($p_a < 0,001$) и 141,5 % ($p_a < 0,001$) по сравнению с соответствующими показателями в контрольной группе. Содержание предшественника калликреина – прекалликреина в секрете простаты при воспалительной форме СХТБ на 21,3 % ($p_a < 0,05$) ниже, чем в контрольной группе. Активность поливалентных ингибиторов сериновых протеиназ – α_1 -ПИ и α_2 -МГ в секрете простаты на 129,7 ($p_a < 0,001$) и 300,0 % ($p_a < 0,001$) выше, чем в группе здоровых мужчин.

При невоспалительной форме СХТБ IIIB активация протеолиза в секрете простаты выражена слабее. Так, калликреино- и эластазоподобная активности секрета простаты на 153,7 ($p_a < 0,001$) и 258,4 % ($p_a < 0,001$) выше, а трипсиноподобная и ингибиторная активности α_1 -ПИ и α_2 -МГ не отличаются от соответствующих показателей в контрольной группе. Содержание прекалликреина в сыворотке крови больных при СХТБ IIIB на 26,1 % ($p_a < 0,001$) ниже, чем в контрольной группе.

Сравнивая состояние протеолитических процессов в предстательной железе при воспалительной и невоспалительной формах заболевания, необходимо отметить, что при СХТБ IIIA активность калликреина и общая активность сериновых протеиназ в секрете простаты на 73,6 ($p_b < 0,001$) и 56,4 % ($p_b < 0,001$) выше, чем при невоспалительной форме заболевания. Содержание прекалликреина в секрете простаты не отличается при разных формах СХТБ. Однако при воспалительной форме СХТБ эластазоподобная активность секрета простаты на 48,4 % ($p_b < 0,001$) ниже таковой при СХТБ IIIB, что, по-видимому, обусловлено большим ингибиторным потенциалом секрета простаты при воспалительной форме заболевания. Так, ингибиторная активность α_1 -ПИ и α_2 -МГ при воспалительной форме СХТБ на 124,8 ($p_b < 0,001$) и 276,5 % ($p_b < 0,001$) выше, чем при СХТБ IIIB.

Таким образом, несмотря на увеличение ингибиторного потенциала секрета простаты, активация ККС в предстательной железе при воспалительной форме СХТБ выражена сильнее, чем при невоспалительной форме заболевания.

Необходимо отметить, что обнаруженная в секрете простаты при обеих формах заболевания высокая ингибиторная активность α_2 -МГ, свидетельствует о повреждении гематопростатического барьера и развитии мембранопатии. α_2 -МГ играет важную роль в регуля-

ции процессов воспаления, так как ограничивает субстратную специфичность большинства протеолитических ферментов, превращая протеазы в пептидазы, которые гидролизуют низкомолекулярные пептиды, являющиеся медиаторами воспалительных процессов. Кроме того, α_2 -МГ является основным транспортером регуляторных цитокинов к клеткам, участвует в процессинге и презентации антигенов, передаче сигнала к клетке и в запуске каскада внутриклеточных реакций, влияет на антителолиз [11].

Особого внимания заслуживает увеличение активности лейкоцитарной эластазы и в сыворотке крови, и в секрете предстательной железы независимо от формы СХТБ. С одной стороны, активация эластазы вносит существенный вклад в нарушение протеолитических процессов организма, проницаемости гематопростатического барьера, так как эластин не является единственным белковым субстратом эластазы, она способна разрушать также коллагены III, VI и VIII генетических типов, интегрин, протеоглики, гистоны, основной белок миелина, факторы гемокоагуляции, фибринолиза, ККС и комплемента [12, 13]. С другой стороны, являясь биохимическим маркером воспалительного процесса, лейкоцитарная эластаза отражает интенсивности развития воспалительной реакции, степень дегрануляционной активности полиморфно-ядерных лейкоцитов. Учитывая, что одним из критериев дифференциальной диагностики воспалительной и невоспалительной форм СХТБ является наличие лейкоцитов в секрете простаты или моче после массажа простаты при СХТБ IIIA (классический тест Meares and Stamey), парадоксальным выглядит у больных с невоспалительной формой заболевания более высокий уровень эластазоподобной активности секрета простаты – на 48,4 % ($p_b < 0,001$) выше, чем при воспалительной форме. Повреждающее действие лейкоцитарной эластазы в отношении белков реализуется, несмотря на быстрое связывание освобождающегося фермента ингибиторами плазмы крови: α_1 -ПИ и отчасти α_2 -МГ. Нами показано, что у больных с воспалительной формой СХТБ резко увеличивается ингибиторный потенциал секрета простаты. Так, активность α_1 -ПИ и α_2 -МГ в секрете простаты на 129,7 ($p_a < 0,001$) и 300,0 % ($p_a < 0,001$) соответственно выше, чем в контрольной группе, и на 124,8 ($p_b < 0,001$) и 276,5 % ($p_b < 0,001$) выше аналогичных показателей при невоспалительной форме СХТБ.

α_1 -ПИ – белок острой фазы воспаления, является основным эндогенным регулятором эластазолитической активности секрета простаты и секретируется во время воспаления, снижая тем самым протеолитическую активность лейкоцитарной эластазы в месте воспаления [14]. Таким образом, α_1 -ПИ играет важную регуляторную роль в противовоспалительном ответе при СХТБ.

В группе с СХТБ IIIA, помимо субъективно-объективных признаков воспаления – боли и лейкоцитоза секрета простаты, данные о состоянии протеолитических процессов в секрете простаты подтверждают наличие активного воспалительного процесса

в предстательной железе, одним из клинических проявлений которого является хронический болевой синдром. В то же время для пациентов с невоспалительной формой СХТБ выявлена иная закономерность. Отсутствие клинико-лабораторных признаков активного воспаления дают основание предполагать, что воспаление в предстательной железе первоначально исполняет роль «триггера» в развитии болевого синдрома, однако в дальнейшем, несмотря на стихание воспалительного процесса, болевой синдром сохранялся уже за счет иных механизмов, в том числе активации протеолитических систем крови.

Таким образом, нарушение метаболических процессов развития воспаления при СХТБ происходит на фоне дисбаланса системы протеиназы–ингибиторы, неконтролируемое усиление протеолитических процессов в простате в условиях ослабления естественной резистентности организма является наиболее значимым фактором развития СХТБ. Результаты исследования показали, что состояние протеолитических процессов в крови и секрете простаты может служить дополнительным диагностическим критерием тяжести воспалительного процесса и функционального состояния мужской репродуктивной системы при СХТБ.

Литература

1. Nickel J.C. Treatment of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome // *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2008. Vol. 31, № 1. P. S112 – S116.
2. Martinez-Bianchi V., Halstater B.H. Urologic Chronic pelvic pain syndrome // *Clinics in Office Practice*. 2010. Vol. 37, № 3. P. 527 – 546.
3. The National Institutes of Health chronic prostatitis symptom index: development and validation of a new outcome measure. Chronic Prostatitis Collaborative Research Network / M.S. Litwin [et al.] // *J. Urol*. 1999. Vol. 162. P. 369 – 375.
4. Яровая Г.А. Биорегулирующие функции и патогенетическая роль протеолиза // *Лаб. медицина*. 2003. № 6. С. 48 – 54.
5. 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. Vol. 98, № 1. P. 77 – 83.
6. Пасхина Т.С., Кринская А.В. Упрощенный метод определения калликреиногена и калликреина в сыворотке (плазме) крови человека в норме и при некоторых патологических состояниях // *Вопросы мед. химии*. 1974. Т. 20, № 6. С. 660 – 663.
7. Пасхина Т.С., Яровая Г.А. Калликреин сыворотки крови человека. Активность фермента и хроматографический метод определения // *Биохимия*. 1970. Т. 35, № 5. С. 1055 – 1058.
8. Парфенкова Г.А., Оглоблина О.Г., Домба Г.Ю. Клиническое значение определения активности эластазо- и хитрипсиноподобных протеиназ в плазме крови больных неспецифическим аортоартериитом и атеросклерозом // *Кардиология*. 1989. № 9. С. 94 – 96.
9. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. Унифицированный метод определения активности α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека // *Вопросы мед. химии*. 1979. Т. 25, № 4. С. 494 – 502.
10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М., 2002. 312 с.

11. Зорин Н.А., Зорина В.Н., Зорина Р.М. Универсальный модулятор цитокинов α_2 -макроглобулин // Иммунология. 2004. Т. 25, № 5. С. 302 – 304.

12. Chua F., Laurent G.J. Neutrophil elastase mediator of extracellular matrix destruction and accumulation // The Proceedings of the American Thoracic Society. 2006. № 3. P. 424 – 427.

13. Neutrophil elastase cleaves Laminin-332 (Laminin-5) generating peptides that are chemotactic for neutrophils / P. Mydel [et al.] // J. Biol. Chem. 2008. Vol. 283, № 15. P. 9513 – 9522.

14. α_1 -Antitrypsin is an endogenous inhibitor of proinflammatory cytokine production in whole blood / G.B. Pott [et al.] // J. of Leukocyte Biology. 2009. Vol. 85. P. 886 – 895.

Поступила в редакцию

7 июня 2011 г.