

sIgA-ПРОТЕАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СЕКРЕТА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Пашина О.А., Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Гриценко В.А.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук – структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Резюме. Цель – охарактеризовать способность бактерий разной таксономической принадлежности, выделенных из секрета простаты, инактивировать секреторный IgA (sIgA).

Эксперименты проводили на 122 изолятах восьми видов микроорганизмов, выделенных из секрета простаты больных хроническим бактериальным простатитом (ХБП) и здоровых мужчин. Бактериальный спектр микрофлоры исследовали бактериологическим методом, видовую идентификацию микроорганизмов осуществляли методом масс-спектрометрии. sIgA-протеазную активность микроорганизмов определяли иммуноферментным методом с использованием набора «IgA секреторный – ИФА-БЕСТ».

Установлена широкая распространенность sIgA-протеазной активности у микроорганизмов разных видов, выделенных из секрета предстательной железы больных ХБП и здоровых мужчин. Наиболее активными продуцентами sIgA-протеаз явились *E. faecalis*. Выявлена внутривидовая и межвидовая вариабельность уровня sIgA-протеазной активности среди стафилококков. Установлено, что микроорганизмы, выделенные при ХБП, обладают достоверно более выраженной способностью к инактивации sIgA по сравнению со штаммами, изолированными от здоровых мужчин.

Ключевые слова: хронический бактериальный простатит, секрет предстательной железы, бактерии, бактериальная персистенция, sIgA-протеазная активность, антииммуноглобулиновая активность

sIgA-PROTEASE ACTIVITY OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM THE PROSTATE SECRETION

Pashinina O.A., Kartashova O.L., Pashkova T.M., Gritsenko V.A.

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Abstract. Our aim was to characterize the ability of bacteria from prostate secretions of different taxonomic affiliations to inactivate secretory IgA (sIgA). Materials and methods: We performed experiments with 122

Адрес для переписки:

Пашина Ольга Александровна
Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза
Уральского отделения Российской академии наук
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11.
Тел.: 8 (922) 543-91-41.
E-mail: olga25mikro@mail.ru

Address for correspondence:

Olga A. Pashinina
Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis
11 Pionerskaya St
Orenburg
460000 Russian Federation
Phone: +7 (922) 543-91-41.
E-mail: olga25mikro@mail.ru

Образец цитирования:

О.А. Пашина, О.Л. Карташова, Т.М. Пашкова, В.А. Гриценко «sIgA-протеазная активность микроорганизмов, выделенных из секрета предстательной железы» // Российский иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 4. С. 471-476.
doi: 10.46235/1028-7221-13776-SPA

© Пашина О.А. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

O.A. Pashinina, O.L. Kartashova, T.M. Pashkova, V.A. Gritsenko “sIgA-protease activity of microorganisms isolated from the prostate secretion”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2023, Vol. 26, no. 4, pp. 471-476.
doi: 10.46235/1028-7221-13776-SPA

© Pashinina O.A. et al., 2023

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-13776-SPA

isolates of eight types of microorganisms isolated from prostate secretions of the patients with chronic bacterial prostatitis (CBP) and healthy males. The bacterial spectrum of microbiota was studied by bacteriological techniques, the species identification of microorganisms was carried out by mass spectrometry. The sIgA-protease activity of microorganisms was determined by the enzyme immunoassay using the “IgA secretory – ELISA-BEST” kit. Results: A wide prevalence of sIgA-protease activity has been detected in the microorganisms of different types isolated from prostate secretions of patients with CBP and healthy males. *E. faecalis* was the most active producer of sIgA proteases. We revealed an intraspecific and interspecific variability of the levels of sIgA-protease activity among Staphylococci. The microorganisms isolated from CBP were shown to express a significantly more pronounced ability to inactivate sIgA compared to strains isolated from healthy men.

Keywords: chronic bacterial prostatitis, prostate secretion, bacteria, bacterial persistence, sIgA protease activity, anti-immunoglobulin activity

Введение

Условно-патогенные бактерии, стремясь выжить в условиях биотопа, реализуют свои персистентные свойства, благодаря которым приобретают способность противостоять факторам естественной резистентности макроорганизма [3]. sIgA-протеазная активность – один из факторов персистенции, обеспечивающих толерантность микроорганизмов к действию секреторного иммуноглобулина IgA.

Секреторный иммуноглобулин А обладает выраженным протективным эффектом в отношении микроорганизмов и противостоит микробной колонизации биотопов макроорганизма. Несмотря на то, что секреторный компонент предохраняет sIgA от разрушения микробными протеазами, многие микроорганизмы способны его деградировать, супрессируя, тем самым, локальный иммунитет.

У микроорганизмов, выделенных из секрета простаты при ХБП, изучен широкий спектр факторов патогенности и персистенции [6, 7], однако данные о способности этих микроорганизмов инактивировать секреторный IgA малочисленны и противоречивы.

Цель исследования – охарактеризовать способность бактерий разной таксономической принадлежности, выделенных из секрета простаты, инактивировать секреторный IgA.

Материалы и методы

В работе были исследованы 122 штамма восьми видов микроорганизмов (*E. coli* (16 шт.), *K. pneumoniae* (4 шт.), *M. morgani* (4 шт.), *S. aureus* (16 шт.), *S. haemolyticus* (34 шт.), *S. epidermidis* (20 шт.), *S. warneri* (6 шт.), *E. faecalis* (22 шт.)), выделенных из секрета простаты мужчин больных хроническим бактериальным простатитом (ХБП) и здоровых мужчин. Видовую принадлежность микроорганизмов оценивали с помощью масс-спектрометра MALDI-TOF серии Microflex (Bruker Daltonics, Германия).

sIgA-протеазную активность микроорганизмов определяли иммуноферментным методом по [4] с использованием набора «IgA секреторный – ИФА-БЕСТ». Оптическую плотность опытной и контрольной проб измеряли на фотометре STAT FAX 2100 при λ 492 нм. sIgA-протеазную активность рассчитывали как отношение разности концентрации иммуноглобулина А в контроле и опыте к контрольной концентрации иммуноглобулина А и выражали в процентах.

Статистический анализ результатов проводился с помощью пакета программ Microsoft Excel 2007. Значимость различий средних величин показателей оценивали с помощью методов вариационной статистики (t-критерий Стьюдента). Статистически значимыми отличия считали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При бактериологическом исследовании секрета простаты стафилококки разных видов выделяли в 62,3% случаев, *E. faecalis* – в 18% случаев, а *E. coli* и другие энтеробактерии – в 19,7%. При ХБП были идентифицированы микроорганизмы восьми видов – *E. coli*, *K. pneumoniae*, *M. morgani*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *E. faecalis*, а из секрета простаты здоровых мужчин – 6 видов, *M. morgani* и *S. warneri* выделены не были.

Анализ частоты встречаемости sIgA-протеазной активности у изученных штаммов бактерий показал широкое распространение данного признака среди выделенных микроорганизмов. Так, абсолютно все выделенные штаммы энтеробактерий и энтерококков характеризовались способностью инактивировать sIgA. Среди стафилококков данный маркер персистенции был выявлен у всех изолятов *S. haemolyticus*, 66,7% – *S. warneri*, 70% – *S. epidermidis* и только у 25% штаммов *S. aureus*.

Максимальный уровень sIgA-протеазной активности был выявлен у изолятов *E. faecalis* (22,1±0,4%), а минимальный – у *S. aureus*

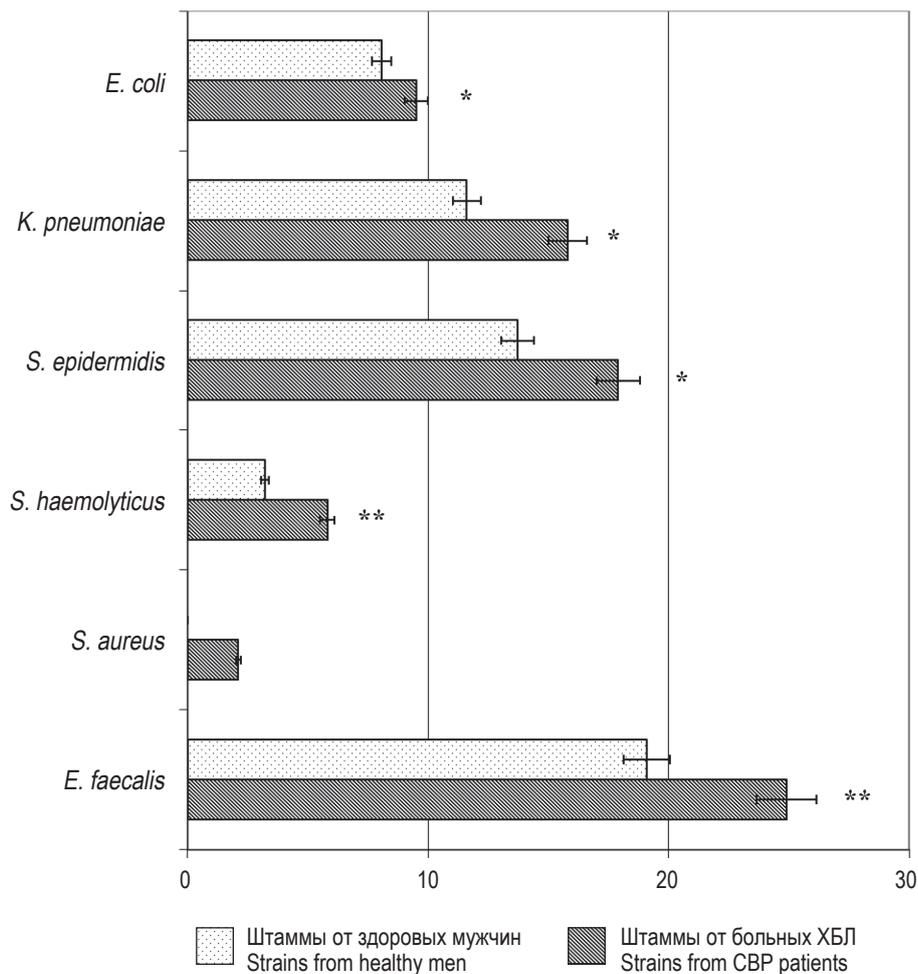


Рисунок 1. Уровни sIgA-протеазной активности микроорганизмов, выделенных из секрета простаты у больных ХБП и здоровых мужчин

Примечание. * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$.

Figure 1. sIgA-protease activity of microorganisms isolated from prostate secretions in CBP and from healthy men
Note. *, $p < 0.01$; **, $p < 0.001$.

($2,1 \pm 0,1\%$). У энтеробактерий выраженность данного признака колебалась в диапазоне от $8,7 \pm 0,2\%$ у *E. coli* до $13,7 \pm 0,1\%$ у *K. pneumoniae*. У коагулазоотрицательных стафилококков уровень sIgA-протеазной активности уменьшался в ряду: *S. epidermidis* ($15,8 \pm 0,1\%$) *S. warneri* ($8,4 \pm 0,2\%$) *S. haemolyticus* ($4,5 \pm 0,2\%$).

Сравнительный анализ частоты встречаемости и уровня выраженности sIgA-протеазной активности штаммов, выделенных от больных хроническим бактериальным простатитом и здоровых мужчин, показал, что экспрессивность исследуемого свойства была существенно ($p < 0,01$) выше у штаммов, выделенных при патологии.

У изолятов *E. coli* и *K. pneumoniae*, выделенных при патологии, выраженность sIgA-протеазной активности была выше на 16 и 27% и составила $9,5 \pm 0,3\%$ и $15,8 \pm 0,2\%$ против $8,0 \pm 0,1\%$ и $11,6 \pm 0,1\%$ соответственно. Среди грамположи-

тельных кокков разница экспрессии признака была отмечена от 23% у *S. epidermidis* до 45% у штаммов *S. haemolyticus*. При этом выраженность sIgA-протеазной активности штаммов, выделенных при ХБП, составила у *E. faecalis* – $24,9 \pm 0,3\%$, у *S. epidermidis* – $17,9 \pm 0,4\%$, у *S. haemolyticus* – $5,8 \pm 0,15\%$ и у *S. aureus* – $2,1 \pm 0,05\%$; у изолятов от здоровых мужчин – *E. faecalis* – $19,1 \pm 0,5\%$, у *S. epidermidis* – $13,7 \pm 0,1\%$, у *S. haemolyticus* – $3,2 \pm 0,2\%$, а штаммы *S. aureus* не проявляли способности к инактивации секреторного иммуноглобулина А (рис. 1).

Заключение

Известно, что многие патогенные и потенциально патогенные бактерии могут проявлять антииммуноглобулиновую активность, то есть инактивировать иммуноглобулины (антитела), что позволяет им выживать в макроорганизме

при контакте с этими гуморальными эффекторами иммунитета [3]. Один из механизмов антииммуноглобулиновой активности бактерий связан с их способностью секретировать во внешнюю среду специфические протеолитические ферменты – sIgA-протеазы, расщепляющие аминокислотную цепь $\alpha 1$ у IgA1 в области дупликации.

В нашем исследовании установлена относительно широкая распространенность sIgA-протеазной активности у микроорганизмов разных видов, выделенных из секрета предстательной железы у больных ХБП и здоровых мужчин. К наиболее активным продуцентам sIgA-протеаз следует отнести штаммы *E. faecalis*, все проявлявшие данный признак, причем с самой высокой его экспрессией. Все выделенные клинические изоляты энтеробактерий также обладали sIgA-протеазной активностью, но ее уровень был в 1,6–2,5 раза ниже, чем у энтерококков. Максимальную степень внутриродовой (межвидовой) вариабельности по частоте встречаемости и уровню выраженности sIgA-протеазной активности демонстрировали штаммы стафилококков. При этом продуцентами sIgA-протеаз являлись все изоляты *S. haemolyticus* и только 25% штаммов *S. aureus*, у которых, кроме того, наблюдался самый низкий уровень выраженности данного признака. Полученные результаты, с одной стороны, указывают на наличие у микроорганизмов, персистирующих в предстательной железе у больных ХБП, механизмов защиты от такого эффектора гуморального иммунитета, как sIgA, с другой стороны, объясняют снижение уровня sIgA в секрете простаты, которое регистрируется у пациентов с указанной патологией [5].

Не менее интересны результаты, указывающие на то, что бактерии, выделенные при ХБП, обладают достоверно более выраженной способностью к инактивации секреторного иммуноглобулина А по сравнению со штаммами микроорганизмов той же видовой принадлежности, изолированными от здоровых мужчин. Выявленные нами значимые различия в экспрессии sIgA-протеазной активности у штаммов бактерий, выделенных от больных хроническим

бактериальным простатитом и здоровых мужчин, согласуются с результатами ранее проведенных исследований. Так, коллективом авторов с использованием метода радиальной иммунодиффузии в геле показано, что у стафилококков, выделенных из эякулята у больных с ХБП, антииммуноглобулиновая активность была существенно выше, чем у штаммов, изолированных из спермы здоровых мужчин [2].

Безусловно, следует согласиться с мнением авторов, считающих, что показатели местного иммунитета, в том числе концентрация sIgA в эякуляте и/или секрете простаты, могут служить информативными критериями для диагностики хронического простатита [1]. Однако в этом случае необходимо учитывать, что при бактериальном варианте данной патологии на уровень иммуноглобулинов в указанных биосредах могут существенное влияние оказывать метаболические особенности вегетирующих в урогенитальном тракте микроорганизмов, в частности наличие у них способности продуцировать и секретировать во внеклеточное пространство sIgA-протеазы.

Очевидно, высокий уровень экспрессии sIgA-протеазной активности у персистирующих штаммов бактерий, выделенных при ХБП, необходим для их выживания в условиях действия секреторного иммуноглобулина А. В то же время продукция бактериями метаболитов, инактивирующих факторы противоинфекционной резистентности, может приводить к развитию местного иммунодефицита с последующим формированием хронического воспалительного процесса в предстательной железе, что влечет за собой морфофункциональные дегенеративные изменения в ткани данного органа.

В этом смысле дальнейшее изучение у больных ХБП иммуностатуса предстательной железы и персистентного потенциала бактерий, колонизирующих простату, позволит разработать новые иммунологические и микробиологические маркеры данной патологии, которые могут быть использованы как при ее диагностике, так и для оценки эффективности ее лечения.

Список литературы / References

1. Бобков Ю.А., Аль-Шукри С.Х., Горбачев А.Г., Галкина О.В., Козлов В.В., Тотолян А.А. Информативность показателей местного иммунитета при хроническом простатите // Медицинская иммунология, 2000. Т. 2, № 4. С. 401-408. [Bobkov Yu.A., Al-Shukri S.H., Gorbachev A.G., Galkina O.V., Kozlov V.V., Totolian A.A. Informativeness of indicators of local immunity in chronic prostatitis. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2000, Vol. 2, no. 4, pp. 401-408. (In Russ.)]
2. Бойко О.В., Терентьев А.А., Ахминеева А.Х. Метаболическая активность микроорганизмов, выделенных у больных хроническим простатитом // Проблемы репродукции, 2014. № 6. С. 6-9. [Boiko O.V., Terentyev A.A., Ahmineeva A.H. Metabolic activity of microorganisms isolated from patients with chronic prostatitis. *Problemy reproduksii = Problems of Reproduction*, 2014, no. 6, pp. 6-9. (In Russ.)]

3. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999. 365 с. [Bukharin O.V. Persistence of pathogenic bacteria]. Moscow: Meditsina, 1999. 365 p.
4. Бухарин О.В., Чайникова И.Н., Вальшев А.В. Способ определения антииммуноглобулиновой активности микроорганизмов // Патент РФ № 2236465. Бюл. № 26 от 20.09.2004. [Bukharin O.V., Chaynikova I.N., Valyshev A.V. Method for determining the anti-immunoglobulin activity of microorganisms // RF Patent No. 2236465. Bull. No. 26 09.20.2004].
5. Камалов А.А., Ефремов Е.А., Дорофеев С.Д., Охоботов Д.А., Мельник Я.И., Бедретдинова Д.А. Клинико-иммунологические аспекты хронического бактериального простатита на фоне проведения иммуномодулирующей терапии // Эффективная фармакотерапия. Урология и нефрология, 2007. № 3. С. 10-17. [Kamalov A.A., Efremov E.A., Dorofeev S.D., Ohobotov D.A., Melnik Ya.I., Bedretdinova D.A. Clinical and immunological aspects of chronic bacterial prostatitis against the background of immunomodulatory therapy. *Effektivnaya farmakoterapiya. Urologiya i nefrologiya = Effective Pharmacotherapy. Urology and Nephrology*, 2007, no. 3, pp. 10-17. (In Russ.)]
6. Карташова О.Л., Пашина О.А., Пашкова Т.М., Гриценко В.А., Михайленко С.В. Биопрофили стафилококков разных видов, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с хроническим бактериальным простатитом // Тихоокеанский медицинский журнал, 2023. № 1. С. 70-74. [Kartashova O.L., Pashina O.A., Pashkova T.M., Gricenko V.A., Mihajlenko S.V. Bioprofiles of various types of staphylococci isolated from prostate secretions in men with chronic bacterial prostatitis. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal*, 2023, no. 1, pp. 70-74. (In Russ.)]
7. Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Пашина О.А., Морозова Н.В. Антицитокиновая активность и способность к продукции цитокиноподобных веществ стафилококков, выделенных из секрета предстательной железы у мужчин с симптомами урогенитальной инфекции // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 2. С. 257-260. [Kartashova O.L., Pashkova T.M., Pashina O.A., Morozova N.V. Anticytokine activity and ability to produce cytokine-like substances of staphylococci isolated from prostate secretion in men with symptoms of urogenital infection. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2021, Vol. 24, no. 2, pp. 257-260. (In Russ.)]. doi: 10.46235/1028-7221-995-AAA.

Авторы:

Пашина О.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Карташова О.Л. — д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Authors:

Pashina O.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Kartashova O.L., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Leading Research Associate, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Пашкова Т.М. — д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории персистенции и симбиоза микроорганизмов Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Pashkova T.M., PhD, MD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Microbial Persistence and Symbiosis, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Гриценко В.А. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — структурное подразделение ФГБУН «Оренбургский федеральный исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук, г. Оренбург, Россия

Gritsenko V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg Federal Research Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

Поступила 09.07.2023
Принята к печати 12.07.2023

Received 09.07.2023
Accepted 12.07.2023