

## Imunobiologija prostate i imunomodulatorni učinak antibiotika u liječenju prostatitisa

### *Prostate Immunobiology and Immunomodulatory Effects of Antibiotics in Prostatitis Treatment*

**Alemka Markotić**

Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević"

Odjel za znanstvena istraživanja

10000 Zagreb, Mirogojska 8

**Sažetak** Iako postoje brojni radovi koji analiziraju imunoreakcije u karcinomu prostate, još se vrlo malo zna o imunopatogenezi i čimbenicima upale koji sudjeluju u imunoreakcijama pri razvoju sindroma kroničnog prostatitisa. Proupalni citokini i kemokini, u prvom redu IL-6 i CXCL8, imaju važnu ulogu u razvoju i održavanju upalnih procesa. Dok postoje ograničena istraživanja o ulozi proupalnih citokina i receptora sličnih Tollu (TLR4) u imunopatogenezi sindroma kroničnog prostatitisa, gotovo se ništa ne zna o ostalim čimbenicima (npr. metaloproteinazama) koji mogu utjecati na razvoj kronične upale, ali i posljedični razvoj karcinoma. Ne postoje ni studije koje bi pokazale imunomodulatorni učinak antibiotika (makrolidi, kinoloni, tetraciklini) koje rabimo u liječenju sindroma kroničnog prostatitisa, a za koje znamo iz drugih studija da mogu imati važnu imunomodulatornu ulogu. Ovaj članak ima za cilj potaknuti nova promišljanja i nova istraživanja imunoreakcija u sindromu kroničnog prostatitisa te potencijalnog imunomodulatornog učinka antibiotika koje rabimo u liječenju ovog sindroma.

**Ključne riječi:** imunobiologija prostate, sindrom kroničnog prostatitisa, kronična upala, imunomodulatorni učinak makrolida, kinolona i tetraciklina

**Summary** Although there are numerous articles on the immune response to prostate cancer, yet very little is known about the immunopathogenesis and inflammatory factors involved in the immune reactions in the development of chronic prostatitis syndrome. Proinflammatory cytokines and chemokines, notably IL-6 and CXCL8, have an important role in the development and maintenance of inflammatory processes. While there is limited research on the role of proinflammatory cytokines and Toll-like receptors (TLR4) in the immunopathogenesis of chronic prostatitis syndrome, almost nothing is known about other factors (e.g. metalloproteinases) that could affect the development of chronic inflammation and consequent development of cancer. There are neither any studies to demonstrate immunomodulatory effects of antibiotics (macrolides, quinolones, tetracyclines) that we use in the treatment of chronic prostatitis syndrome, and we know from other studies that they may have an important immunomodulatory role. This article aims to encourage new reflection and research on immune reactions in chronic prostatitis syndrome and on potential immunomodulatory effects of antibiotics used in its treatment.

**Key words:** immunobiology of prostate, chronic prostatitis syndrome, chronic inflammation, immunomodulatory effect of macrolides, quinolones and tetracyclines

Još se vrlo malo zna o imunobiologiji prostate, kao i o imunoreakcijama koje se javljaju tijekom sindroma kroničnog prostatitisa te o njihovoj ulozi u razvoju karcinoma prostate. Iako su brojne kliničke studije pokazale značajnu učinkovitost antimikrobnih lijekova u liječenju sindroma kroničnog prostatitisa, praktično se ništa ne zna o imunomodulatornim učincima makrolida, kinolona i tetraciklina u sindromu kroničnog prostatitisa. Ovaj članak ima za cilj potaknuti nova promišljanja i nova istraživanja imunoreakcija u sindromu kroničnog prostatitisa te potencijalnog imunomodulatornog učinka antibiotika koje rabimo u liječenju ovog sindroma.

### *Grada prostate*

Za bolje razumijevanje imunoreakcija koje će biti opisane u ovom članku važno je podsjetiti se na građu prostate. Periferna zona prostate koja čini oko 70% volumena prostate jest zona u kojoj nastaje najveći postotak karcinoma prostate. Centralna zona zauzima 25% prostate i kroz nju prolazi ejakulacijski vod. Centralna je zona najčešće zahvaćena upalnim procesom koji se najčešće manifestira kao prostatitis. Prijelazna zona koja obuhvaća 5% prostate najčešće je zahvaćena benignom hipertrofijom. Ovaj dio prostate sastoji se od dva lateralna lobusa s periuretralnim

žlijezdama. U ovoj se zoni pored benigne hipertrofije javlja i oko 25% svih adenokarcinoma. Prednji dio prostate uglavnom je građen od fibromuskularnog tkiva bez glandularnih struktura (1).

Histološki se prostata sastoji od strome i epitela. U stromi nalazimo glatke mišićne stanice, fibroblaste i endotelne stanice, dok su sekretorne, bazalne i neuroendokrine stanice epitelne stanice. Kolumnarne su sekretorne stanice visoke s blijedom ili prozirnou citoplazmom, a boje se pozitivno na specifični prostatični antigen (PSA). Bazalne stanice slabije su diferencirane nego sekretorne stanice i ne produciraju PSA ni druge sekrete. Neuroendokrine stanice su nepravilno distribuirane više kroz duktus i dijelom kroz acinuse (2).

## Imunoreakcije u sindromu prostatitisa

Sindrom prostatitisa česta je bolest i treba ga razlikovati od infekcija donjeg urinarnog trakta. Čest je razlog posjeta liječnicima opće prakse i urolozima. Može se prezentirati kao akutna bakterijska infekcija ili može biti kroničan. U praksi se dijagnoza prostatitisa postavlja na osnovi anamnestičkih podataka i kliničke obrade, no ne postoje specifični klinički ili laboratorijski testovi koji će ciljano potvrditi dijagnozu. Velik broj bolesnika osjeća simptome i boluje od prostatitisa godinama. Na žalost, još se vrlo malo zna o patofiziologiji prostatitisa i imunobiologiji prostate tijekom akutnog ili kroničnog prostatitisa. Optimalno liječenje ovih bolesnika također je upitno (3).

National Institute of Health SAD-a (NIH) donio je 1995. god. novu klasifikaciju sindroma prostatitisa (4) koja razlikuje: akutni bakterijski prostatitis, kronični bakterijski prostatitis, upalni i neupalni oblik sindroma kronične zdjelice boli s nedokazanom infekcijom i asimptomatski upalni prostatitis. Prema trajanju kliničkih simptoma prostatitis je akutan ako simptomi traju kraće od tri mjeseca, odnosno kroničan ako su simptomi prisutni tri mjeseca ili duže (4).

Upalni procesi prate sve infekcije i značajan su čimbenik imunopatogenetskih mehanizama različitih akutnih i kroničnih infektivnih bolesti. Upalu karakteriziraju njezini makroskopski glavni simptomi: crvenilo (*rubor*), toplina (*calor*), bol (*dolor*), oteklina (*tumor*) i smetnje u funkciji (*functio laesa*), a sastoji se od slijeda dinamičnih procesa, vaskularnih, neuroloških, humoralnih i celularnih, koji se zbivaju lokalno, na mjestu oštećenja tkiva, a nastaju gotovo pri svakoj imunoreakciji. Kronična upala može biti nastavak akutne upale ili rezultat kontinuiranog odgovora na strano tijelo ili perzistenciju mikroorganizma. Značajke kronične infekcije jesu: unutar 24-48 h uključuje infiltraciju mononuklearnim upalnim stanicama (makrofagi, plazma-stanice, limfociti, katkad eozinofili); može uključivati i proliferaciju fibroblasta i malih krvnih žila (angiogeneza); često rezultira fibrozom, a može dovesti do oštećenja tkiva i gubitka funkcije (5).

U nastavku teksta bit će analizirani čimbenici imunoreakcija koji bi prema dosadašnjim vrlo ograničenim spoznajama mogli imati ulogu u upalnim procesima prostate.

## Receptori slični Tollu i sindrom prostatitisa

Epitelne stanice imaju važnu ulogu u prirodnoj imunosti, u prvom redu kao anatomska barijera, ali i kao stanice sposobne lučiti neke antimikrobne supstancije pri oštećenju. Epitelne su stanice sposobne i prepoznati neke bakterijske produkte preko receptora (PRR, od engl. "pattern recognition receptor") za prepoznavanje molekula koje su zajedničke brojnim mikroorganizmima (PAMP, od engl. "pathogen-associated molecular patterns"). Među te receptore spadaju i receptori slični Tollu (TLR, od engl. "Toll-like receptors"), koji su među ključnim komponentama prirodne imunosti i nalaze se u prvom redu na stanicama koje prezentiraju antigen, unutar stanične membrane ili endosoma. TLR nalazimo i u vertebratima i u nevertebratima i među najstarijim su konzerviranim komponentama imunskog sustava. Ovi receptori nakon vezanja za produkte različitih mikroorganizama pokreću cijelu kaskadu unutarstaničnih mehanizama koji vode ekspresiji gena za upalne medijatore i produkciji kemokina i citokina koji posreduju u inicijaciji imunoreakcija na patogene (6).

Vrlo malo ima podataka o ekspresiji TLR-a u urogenitalnom traktu muškarca, osobito u prostati. U bolesnika s akutnim ili kroničnim bakterijskim prostatitisom nerijetko su uzročnici infekcija gram-negativne bakterije (*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacteria*, *Proteus* i *Serratia*). TLR4, koji prepoznaje lipopolisaharid (LPS), pa prema tomu i generalno gram-negativne bakterije mogao bi imati važnu ulogu u nespecifičnoj imunosti u prostati. Epitelne stanice prostate konstitutivno ekspimiraju TLR4 i CD14 mRNK, a moguća je i transkripcija TLR2, što znači da bi ove stanice mogle prepoznati više komponenta različitih patogena. TLR4, TLR2 i CD14 mogu se detektirati intracelularno, što ovim stanicama vjerojatno omogućava adekvatno vezanje za LPS gram-negativnih bakterija (6).

Nakon vezanja dolazi do signalne kaskade i aktivacije nuklearnog faktora kappa-B (NF- $\kappa$ B) i posljedične produkcije dušikova oksida (NO) i brojnih kemokina. Na taj način epitelne stanice prostate vrlo vjerojatno igraju važnu ulogu u nespecifičnoj imunosti i inicijaciji upalnog odgovora na infekciju (6). Na mišjem je modelu *in vivo* i *ex vivo* pokazano da aktivacija NF- $\kappa$ B u prostati rezultira migracijom leukocita iz kapilara prostate u stromu s posljedičnim nakupljanjem mononuklearnih stanica, što govori o važnoj ulozi NF- $\kappa$ B u razvoju upalnih procesa u prostatitisu (7).

Nedavna studija govori i o mogućoj ulozi TLR-a u imunoreakcijama tijekom prostatitisa uzrokovanog klamidijama. Iako klamidije nerijetko mogu uzrokovati prostatitis, gotovo da nema značajnijih podataka o imunopatogenetskim mehanizmima prostatitisa uzrokovanog ovim patogenom. U spomenutoj studiji analizirane su imunoreakcije nakon infekcije epitelnih stanica prostate *Chlamydijom muridarum*.

rum. Nakon infekcije stanica zabilježena je povišena ekspresija različitih citokina i kemokina odgovornih za regrutaciju i lokalnu aktivaciju upalnih stanica. Štoviše, epitelne stanice prostate ekspimirale su i značajnu razinu TLR4, TLR2, CD14 i adaptorske molekule MyD88 (od engl. "Myeloid differentiation primary response gene 88") za koju je pokazano da stupa u interakciju s TLR4. MyD88 specifično je detektirana u blizini bakterijskih inkluzija, što sugerira i posljedičnu unutarstaničnu aktivaciju TLR-a i signalnu kaskadu kao odgovor na infekciju klamidijama (8).

## *Interleukini, kemokini i sindrom prostatitisa*

Citokini i kemokini maleni su solubilni proteini koje produciraju leukociti i brojne druge stanice tijekom različitih imunoreakcija uključujući i upalu.

Različiti citokini mogu imati sličan učinak, a također mogu stimulirati produkciju drugih citokina. Mogu imati proupalni i protuupalni učinak i snažno regulirati imunoreakcije u našem organizmu. U proupalne citokine ubrajamo: faktor tumorske nekroze alfa (TNF- $\alpha$ ), interleukine (IL-1, IL-6, CXCL8 (IL-8), koji u stvari spada među kemokine i interferon gama (IFN- $\gamma$ ). Njihova je uloga u promociji upalnih imunoreakcija. Protuupalni citokini su: IL-10, IL-1RA, koji sudjeluju u supresiji upalnih imunoreakcija, reparaciji i regeneraciji tkiva, dok regulatornu ulogu (promocija stanične proliferacije i diferencijacije, regulacija stanica imunog odgovora uglavnom limfocita i makrofaga) imaju: IL-2, IL-3, IL-4, IL-5 i IL-7. Općenito, ravnoteža između proupalnih i protuupalnih citokina odgovorna je za razvoj upale i oštećenja tkiva (9).

Glavna uloga kemokina jest njihovo djelovanje kao kemotraktanata koji potiču migraciju stanica. Neki od njih usmjeravaju stanice prema stanicama koje prezentiraju antigen u limfnim čvorovima i nazivamo ih homeostatskim kemokinima. Kemokini također mogu sudjelovati u procesu angiogeneze, maturaciji stanica te, kao što je već spomenuto za CXCL8, mogu imati proupalno djelovanje. Dijelimo ih u četiri skupine prema razmaku između prva dva cisteina: CC-, CXC-, C- i CX<sub>3</sub>C-kemokine (10).

U bolesnika s kroničnim bakterijskim prostatitisom, sindromom kronične pelvične boli, ali i asimptomatskom upalnom prostatitisom, pokazane su povišene razine CXCL-8 u eksprimatu prostate (11). Daljnja istraživanja uloge različitih citokina i kemokina pokazala su da bi CXCL8, mjereno u ejakulatu bolesnika sa sindromom kroničnog prostatitisa, mogao biti među najboljim prediktivnim nespecifičnim markerima razvoja kronične upale. Pored CXCL8, u ejakulatu bolesnika sa sindromom kroničnog prostatitisa nađene su značajno povišene vrijednosti niza drugih citokina: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL12p50 i kemokina: CCL1, CCL3, CCL4, CCL17, CCL22 (12). U studiji Paulisa i suradnika pokazane su također povišene vrijednosti IL-6 i CXCL8 u ejakulatu i eksprimatu prostate u bolesnika sa sindromom kroničnog prostatitisa, kao i njihova korelacija sa simptomima prostatitisa (13). Pored spomenutih citokina u studiji

ji Millera i suradnika nađene su povišene vrijednosti IFN- $\gamma$ , IL-2 i IL-10 u ejakulatu bolesnika sa sindromom kronične pelvične boli, gdje je IL-10 pozitivno korelirao s jačnom bolnošću. Iz ovih nekoliko studija jasno se vidi da brojni proupalni citokini i kemokini, ali i protuupalni i regulatorni citokini mogu imati ulogu u imunopatogenezi sindroma prostatitisa (14). Koja je međutim njihova stvarna uloga i funkcija u ovoj složenoj mreži i interakciji tijekom sindroma kroničnog prostatitisa ostaje da se vidi u nekim budućim studijama.

Svakako ne treba u ovoj priči zanemariti moguću ulogu upalnih procesa tijekom sindroma kroničnog prostatitisa i razvoja karcinoma prostate. Nije novo da kronični upalni procesi mogu dovesti do razvoja karcinoma. Upalne stanice i njihovi medijatori prisutni su u okolini vjerojatno svih tumora bez obzira na njihov uzrok, a ovo je zapažanje potaknulo istraživanje genske povezanosti neoplastične transformacije i upale. Štoviše, nedavna su istraživanja pokazala da onkogeni orkestriraju produkciju proupalnih medijatora. Prema nekim studijama tumori potiču konstantan priljev mijelomonocita koji su ključni u orkestriranju upale vezane s tumorogenezom, subverzijom adaptivnih imunoreakcija, angiogenezom, remodeliranjem strome i stvaranjem metastaza (15, 16).

## *Imunomodulatorni učinak antibiotika u liječenju kroničnog prostatitisa*

U liječenju kroničnog prostatitisa uglavnom rabimo tri skupine antibiotika: kinolone, makrolide i tetracikline zbog njihove dobre penetracije u tkivo prostate i prostatičnu tekućinu. Tri različita čimbenika utječu na difuziju i koncentraciju antibiotika u tkivo prostate: liposolubilnost, konstanta disocijacije (pKa) i vezanje proteina. Normalni pH u prostatičnoj je tekućini 6,5-6,7, a povisuje se u kroničnom prostatitisu u rasponu od 7,0 do 8,3. Među dostupnim antibioticima beta-laktami imaju nizak pKa i lošu liposolubilnost te loše prodiru u prostatu (17). Dobra penetracija u tkivo prostate zabilježena je za tobramicin, netilmicin, sulfonamide, a prema nekim studijama i za nitrofurantoin, no najbolji su rezultati za sada pokazani za kinolone, makrolide i tetracikline (18). Ovi lijekovi međutim osim antibakterijskog imaju značajno i imunomodulatorno, u prvom redu protuupalno djelovanje (5, 19, 20). Iznenaduje međutim da ne postoje ne samo klinička nego ni bazična istraživanja koja bi pored antibakterijskog pokušala definirati i imunomodulatorno djelovanje kinolona, makrolida i tetraciklina u liječenju kroničnog bakterijskog prostatitisa. Neka promišljanja i hipoteze u tom smislu dana su u nastavku teksta.

### **Makrolidi**

Makrolidi osim ciljanog antibakterijskog djelovanja mogu imati važan imunomodulatorni učinak. Makrolidni antibiotici mogu imati jači ili slabiji učinak u modulaciji upale ra-

zličitim mehanizmima: djelovanje na kemotaksiju upalnih stanica, sintezu citokina, ekspresiju adhezijskih molekula i produkciju reaktivnih metabolita kisika i dušikova oksida (NO). Makrolidi su sposobni akumulirati se u neutrofilima i makrofagima u znatno višim koncentracijama nego u izvanstaničnoj tekućini. Značajno inhibiraju proizvodnju proupalnih citokina kao što su interleukini (IL-1, IL-6, IL-8) i čimbenik nekroze tumora alfa (TNF- $\alpha$ ), vjerojatno djelujući na transkripcijski nuklearni faktor kappa B (NF- $\kappa$ B) ili aktivator protein 1 (AP-1). Također inhibiraju proliferaciju fibroblasta, angiogenezu i adheziju endotelnih stanica (5, 19, 20).

Sposobnost nakupljanja makrolida u polimorfonuklearima znatna je potpora liječenju bakterijskih infekcija zbog njihova brzog nakupljanja u inficiranom tkivu te na taj način neutrofili poput "transportne službe" dovode dodatnu količinu lijeka na mjesto infekcije (5, 19, 20). Ako međutim analiziramo imunomodulatorni učinak makrolida na neutrofile, vidjet ćemo da makrolidi imaju dvojni učinak na neutrofile. Na samom početku makrolidi aktiviraju neutrofile, nakon čega dolazi do inhibicije njihove aktivacije: inhibicija kemotaksije, degranulacije, oksidativnog praska, stvaranja proupalnih citokina – TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, matriksnih metaloproteinaza, adhezijskih molekula i apoptoze u cilju smirivanja upale i zaštite okolnog tkiva. Osim inhibicije aktivacije neutrofila, makrolidi smanjuju nakupljanje neutrofila na mjestu upale (21).

Također je zapaženo da makrolidi imaju imunomodulatorni učinak i na monocite tako što pospješuju njihovu diferencijaciju u makrofage, potiču proces fagocitoze, osobito inicijalnu fazu endocitoze. S druge strane, kao i kod neutrofila i u makrofagima makrolidi inhibiraju stvaranje proupalnih citokina (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, čimbenika stimulacije rasta kolonija granulocita i makrofaga (GM-CSF) (21).

Makrolidi mogu izravno djelovati i na epitelne stanice, također smanjujući proizvodnju proupalnih citokina i kemokina, u prvom redu IL-8, ali i nekih drugih citokina kao IL-6 i GM-CSF. Pokazano je da makrolidi mogu utjecati na povećanje integriteta te smanjivati propusnost epitelnog sloja. Također mogu djelovati na povećano stvaranje defenzina, antimikrobnih peptida (19-21).

Nedavno su objavljena i istraživanja koja pokazuju djelovanje makrolida na neke faktore virulencije bakterija u smislu smanjivanja njihove pokretljivosti i sposobnosti adhezije na stanice domaćina (22, 23). Osobito je važan učinak azitromicina i klaritromicina na ekspresiju faktora virulencije kod *Pseudomonasa aeruginosae* i sposobnost ove bakterije da stvara biofilm (24, 25). Azitromicin ima sposobnost djelovanja na sintezu homoserin laktona koji se nakuplja pri povišenoj koncentraciji ovih bakterija te alginata i na taj način dijelom inhibira nastanak biofilma (24, 25).

U zadnje vrijeme, iako nema sustavnih studija koje bi rasvijetlile imunomodulatorni učinak makrolida, u prvom redu azitromicina, u liječenju prostatitisa, javljaju se studije koje indirektno pokazuju korist od uključivanja azitromicina u liječenje različitih oblika prostatitisa. Azitromicin je prvi izbor u liječenju prostatitisa uzrokovanog *Chlamydia*

*trachomatis*, *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma urealyticum* u dozi od 4,5 g oralno tijekom tri tjedna u obliku pulsne terapije tri dana na tjedan u dozi od 1x500 mg na dan. Svoje važno mjesto dobio je međutim i u liječenju kroničnoga bakterijskog prostatitisa, najčešće u kombinaciji s fluorokinolonima u trajanju od 4 do 6 tjedana, također kao već opisana pulsna terapija (3). Spektar djelovanja makrolida dosta je širok i obuhvaća gram-pozitivne i gram-negativne patogene: *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria* spp., *Moraxella catharralis*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella* i *Sighella* spp., *Legionella* spp., *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma*, *Mycobacterium avium*, kao i anaerobe kao što su: *Actinomyces* spp., *Clostridium* spp. i *Peptostreptococci* i neke gljive (26, 27). Nekoliko studija o kinetici makrolida pokazalo je da makrolidi dobro penetriraju u prostatu te da je koncentracija azitromicina i klaritromicina u tkivu prostate u muškaraca koji su liječeni s 500 ili 750 mg oralno bila 2,54 i 3,83  $\mu$ g/ml, što je za azitromicin iznosilo 20 puta, a za klaritromicin dva puta više koncentracije od koncentracija u plazmi (28, 29). Također je u bolesnika s prostatitisom, koji uz to imaju prostatolite, a time i veću mogućnost stvaranja biofilma, važna primjena azitromicina u liječenju prostatitisa. Osim dobre penetracije u prostatu, djelovanje na biofilm i direktno na veći broj bakterija koje su važne u etiologiji prostatitisa, osim možda dvojnog djelovanja na *E. coli* i *Enterococce*, pretpostavlja se da bi azitromicin mogao imati značajno imunomodulatorno djelovanje u liječenju kroničnoga bakterijskog prostatitisa. Azitromicin može u leukocitima inhibirati produkciju proupalnih citokina te pojačati ekspresiju IL-10, a u isto vrijeme sniziti regulaciju TLR4 signalnog puta preko NF $\kappa$ B, što bi moglo pomoći u rezoluciji kronične upale (30). Bez obzira na očito potentni imunomodulatorni i antiupalni učinak makrolida, ovaj se njihov učinak vidi tek nakon nekoliko tjedana ili mjeseci liječenja i to treba imati na umu kod procjene uspješnosti liječenja prostatitisa azitromicinom. Čak i u bolesnika u kojih nije dokazana infekcija bakterijama bilježi se značajno poboljšanje i smirivanje upalnih procesa pri administraciji makrolida (26).

## Kinoloni

Ni za kinolone nemamo dovoljan broj studija koje bi razjasnile stvarni potencijal njihova imunomodulatornog djelovanja. Poznata je njihova sposobnost, kao i makrolida da se uspješno nakupljaju u stanicama s koncentracijom od oko dva do 10 puta višom nego što je njihova koncentracija u plazmi, a za grepafloksacin je izmjerena čak 66 puta viša koncentracija u leukocitima nego u plazmi (19). Spoznaje o protuupalnom djelovanju kinolona ovisе o pokusnim modelima i stanicama koje su upotrijebljene u različitim studijama, tako da za kinolone još imamo različite, pa dijelom i kontradiktorne podatke. Imunomodulatorno djelovanje kinolona može ovisiti i o vrsti primijenjenog kinolona, a najveći broj istraživanja o imunomodulatornom djelovanju kinolona za sada je proveden s moksifloksacinom te ciprofloksacinom (5, 19).

Jedna je studija pokazala inhibitorno djelovanje moksiflok-



sacina na oslobađanje proupalnih citokina iz ljudskih monocita aktiviranih lipopolisaharidom (LPS). Inhibicija je zabilježena na razini upalnih medijatora koji se oslobađaju u sklopu triju signalnih putova važnih u procesu upale: NF- $\kappa$ B, protein kinaza aktivirana mitogenom ERK i c-Jun N-terminalna kinaza (JNK) (31, 32). Nedavno je zapažena i uloga kinolona u regulaciji apoptoze neutrofila. Jedan od homeostatskih mehanizama na mjestu upale jest proces konstitutivne apoptoze, kojim se na mjestu infekcije kontrolira razina upalnog procesa. Zapaženo je da su različiti kinoloni različito modulirali ove procese. Dok je tosufloksacin odgađao smrt neutrofila općenito, pa tako i apoptozu, neki drugi kinoloni kao: ofloksacin, lomefloksacin, fleroxacin, sparfloksacin i levofloksacin značajno su promovirali smrt neutrofila, bez učinka na konstitutivnu apoptozu neutrofila (33).

Kao ni za makrolide, ni za kinolone ne postoje studije koje pokazuju imunomodulatorni učinak ciprofloksacina u liječenju prostatitisa. Kinoloni su lijekovi prvog izbora u liječenju kroničnoga bakterijskog prostatitisa u trajanju od četiri do šest tjedana, ali i liječenju upalnog oblika kronične zdjelice boli/nebakterijskog prostatitisa i neupalnog oblika kronične zdjelice boli/prostatodinije. Nedavna naša studija pokazuje još bolji terapijski učinak u kombinaciji kinolona s makrolidima (34). Iako se indirektno iz provedenih studija može zaključiti da osim antibakterijskog, kinoloni sami ili u kombinaciji s makrolidima imaju značajno imunomodulatorno djelovanje u liječenju prostatitisa, za sada ne postoje kliničke, ali ni *in vitro* i *in vivo* studije koje bi potvrdile ove hipoteze. Jedna jedina nedavna studija pokušala je povezati sniženje razine IL-6 u ejakulatu i urinu uzetom nakon ejakulacije u bolesnika s upalnim oblikom kronične zdjelice boli liječenih ciprofloksacinom. Autori pokušavaju objasniti sniženje razine IL-6 antibakterijskim, kao i mogućim imunomodulatornim učinkom ciprofloksacina (35). Potrebne su međutim sustavne, dobro planirane studije koje bi pokazale stvarni imunomodulatorni potencijal kinolona tijekom liječenja različitih oblika prostatitisa.

## Tetraciklini

Tetraciklini su potentni imunomodulatori (5, 19, 36), a najvažnije imunomodulatorno svojstvo tetraciklina je njihov inhibitorni učinak na matriksne metaloproteinaze (MMP).

Matriksne su metaloproteinaze porodica s više od 20 enzima koji imaju različite funkcije. Na osnovi specifičnosti njihova supstrata i funkcije MMP dijelimo na: gelatinaze (MMP-2, MMP-9), kolagenaze (MMP-1, MMP-8, MMP-13), stromelizine (MMP-3, MMP-10), membranske vrste MMP-a (MT-MMP, MT1-MMP, MT1-MMP-3) te druge (matrilizin, MMP-7; stromelizin, MMP-11 i metaloelastaze, MMP-12) (37, 38).

Jedna od glavnih funkcija MMP-a jest razgradnja izvanstaničnog matriksa (ECM, od engl. *extracellular matrix*). ECM je kompleksna mreža strukturalnih i funkcionalnih makromolekula koje imaju važnu ulogu u morfogenezi organa i tkiva, održavanju stanične i tkivne strukture i funkcije (39), a sve je više spoznaja i o važnoj ulozi ECM-a tijekom različitih patoloških stanja, osobito infekcija. Osim što razgrađu-

ju ECM, metaloproteinaze imaju slično djelovanje i na bazalne membrane, faktore rasta i površinske stanične receptore. U normalnim okolnostima konstitutivna ekspresija MMP-a je minimalna. Ekspresija MMP-a može biti regulirana faktorima rasta, citokinima, različitim kemijskim agensima, fizikalnim stresom i molekulama ECM-a. MMP secerniraju različite vrste stanica u inaktivnoj formi, a proteolitička im je aktivnost u tkivima regulirana enzimskom aktivacijom i inhibicijom (40). MMP se inaktiviraju uglavnom preko tkivnih inhibitora (TIMP) koji se visokim afinitetom vežu na katalitičko mjesto MMP-a. Do sada su opisana četiri TIMP-a (TIMP1-TIMP4). TIMP produciraju različite vrste stanica, kao što su makrofagi, fibroblasti i polimorfonukleari (41).

Povećanu ekspresiju MMP-a nalazimo kod progresije karcinoma gdje mogu djelovati kao onkogeni i poticati invaziju i širenje metastaza praktično kod svih solidnih tumora. MMP igraju važnu ulogu i u angiogenezi, metastazama i oslobađanju faktora koji promoviraju tumorogenezu. Pri tomu su glavni proizvođači MMP-a stromalne i upalne stanice, prije nego tumorske stanice.

Brojni radovi opisuju značenje MMP-a i njihovih inhibitora (TIMP) u karcinomu prostate, dok svega nekoliko radova na animalnim modelima pokazuje potencijalnu ulogu MMP-a u prostatitisu. Povišena aktivnost MMP-2, MMP-7 i MMP-9 zabilježena je u lateralnom lobusu kod prostatitisa u štakora. Također je zabilježena korelacija MMP-a s infiltracijom leukocita i upalnim odgovorom. Pretpostavlja se da bi ove MMP mogle posredovati pri pratećoj atrofiji epitela i oštećenju tkiva u prostati štakora u kojih je pokusno induciran prostatitis (42). MMP i TIMP nađeni su u ejakulatu u muškaraca (43). U štakora su nađeni u ekspri-matu prostate i izgleda da su pojedini MMP i TIMP specifični za različite lobuse prostate. Imunohistokemijski i *western blot* tehnikom analizirani su ventralni, lateralni, dorzalni i prednji lobusi u mladih i odraslih štakora. Najveća ekspresija TIMP-2 nađena je u lateralnom, zatim anteriornom pa dorzalnom lobusu, a najmanja u ventralnom lobusu i u mladih i u odraslih štakora. Također je zapaženo da su svi štakori s histološkom slikom prostatitisa u lateralnom lobusu imali pozitivan TIMP-2 u normalnom epitelu, čak i s intraluminalnom nakupinom neutrofila. S druge strane, TIMP-2 je bio reduciran ili ga uopće nije bilo u epitelu s intraepitelnim leukocitima ili kod periduktalne dezorganizacije strome i infiltracije mononuklearima. Međutim TIMP-2 nije bio induciran prostatitisom jer su i mladi štakori u svome lateralnom lobusu imali ekspresiju TIMP-2. Očito je da bi zbog svoje različite ekspresije u različitim lobusima prostate TIMP-2 mogao biti protein specifičan za lobus koji bi mogao igrati važnu ulogu u regulaciji aktivnosti MMP-a u ejakulatu i održavanju homeostaze u prostati (44). Kakva je uloga TIMP-a u razvoju prostatitisa i adenokarcinoma prostate tek će pokazati buduća istraživanja.

Doksiciklin je jedini poznat sintetski inhibitor MMP-a (45). Za sada jedina klinički nedvojbeno dokazana i prihvaćena imunomodulatorna uloga (antioksidativna, antiupalna) doksiciklina pokazana je u terapiji teških periodontalnih bolesti (46).

U ciljanom liječenju prostatitisa uzrokovanih *Chlamydia trachomatis* i *Ureaplasma urealyticum* doksiciklin dolazi po izboru na drugo mjesto iza azitromicina. Pimjenjuje se 2x100 mg na dan, oralno u ukupnom trajanju od 3 do 4 tjedna (3). Do sada ne postoje kliničke, ali ni *in vitro* i *in vivo* studije koje bi pokazale moguću imunomodulatornu ulogu doksiciklina u liječenju prostatitisa druge etiologije, kao što ne postoje ni studije u ljudi o ulozi MMP-a u imunopatogenezi prostatitisa. Već smo prethodno spomenuli veliku ulogu MMP-a u različitim karcinomima, pa tako i u karcinomu prostate, a poznato je da kronična upala pogoduje karcinogenezi i razvoju karcinoma prostate. Slijedom toga, valja očekivati da bi tijekom budućih istraživanja imunopatogeneze kroničnih prostatitisa mogle biti pokazane neke nove uloge doksiciklina u terapiji kroničnih prostatitisa.

## Zaključak

Imunobiologija prostate i imunoreakcije koje se javljaju u sindromu kroničnog prostatitisa još su nedovoljno istražene i nejasne. Ograničeni podaci postoje samo o ulozi receptora sličnih *Tollu* te proupalnih citokina i kemokina na razvoj kronične upale. Uloga drugih potencijalnih čimbenika kao što su metaloproteinaze, adhezijske molekule, upalne stanice i sl. gotovo je nepoznata. Potpuno je nepoznata potencijalna imunomodulatorna uloga najčešće upotrebljivanih antibiotika u liječenju sindroma kroničnog prostatitisa. Da bismo u budućnosti mogli bolje razumjeti, a onda i liječiti sindrom kroničnog prostatitisa te eventualno prevenirati razvoj karcinoma, potrebna su ekstenzivna klinička i bazična istraživanja ovog problema.

## Literatura

1. <http://urologymatch.com/ProstateAnatomy.htm>
2. McNEAL JE. Normal histology of the prostate. *Am J Surg Pathol* 1988;12:619-33.
3. ŠKERK V, ŠTIMAC G, KRAUS O. Suvremeno liječenje sindroma prostatitisa. *Medix* 2011;17:134-8.
4. KRIEGER JN, NYBERG L Jr, NICKEL JC. NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA*. 1999;282:236-7.
5. MARKOTIĆ A, CVETKO KRAJINOVIĆ L. Protuupalno djelovanje antibiotika. *Infektol glasnik* 2011;31:41-8.
6. GATTI G, RIVERO V, MOTRIH RD, MACCIONI M. Prostate epithelial cells can act as early sensors of infection by up-regulating TLR4 expression and proinflammatory mediators upon LPS stimulation. *J Leukoc Biol* 2006;79:989-98.
7. VYKHOVANETS EV, SHUKLA S, MacLENNAN GT, OLENA V, VYKHOVANETS OV, BODNER DR, GUPTA S. IL-1b-induced post-transition effect of NF-kappa B provides time-dependent wave of signals for initial phase of intraprostatic inflammation. *Prostate* 2009;69:633-43.
8. MACKERN-OBERTI JP, MACCIONAI M, CUFFINI C, GATTI G, RIVERO VE. Susceptibility of prostate epithelial cells to chlamydia muridarum infection and their role in innate immunity by recruitment of intracellular Toll-like receptors 4 and 2 and MyD88 to the inclusion. *Infect Immun* 2006;74:6973-81.
9. MANTOVANI A, GARLANDA C, LOCATI M, RODRIGUEZ TV, FEO SG, SAVINO B, VECCHI A. Regulatory pathways in inflammation. *Autoimmun Rev* 2007;7:8-11.
10. BONECCHI R, GALLIERA E, BORRONI EM, CORSI MM, LOCATI M, MANTOVANI A. Chemokines and chemokine receptors: an overview. *Front Biosci* 2009;14:540-51.
11. HOCHREITER WW, NADLER RB, KOCH AE, CAMPBELL PL, LUDWIG M, WEIDNER W, SCHAEFFER AJ. Evaluation of the cytokines interleukin 8 and epithelial neutrophil activating peptide 78 as indicators of inflammation in prostatic secretions. *Urology* 2000;56:1025-9.
12. PENNA G, MONDANI N, AMUCHASTEGUI S i sur. Seminal plasma cytokines and chemokines in prostate inflammation: interleukin 8 as predictive biomarker in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and benign prostatic hyperplasia. *Eur Urology* 2007;51:524-33.
13. PAULIS G, CONTI E, VOLIANI S, BERTOZZI MA, SARTESCHI ML, FABRIS FM. Evaluation of the cytokines in genital secretions of patients with chronic prostatitis. *Arch Ital Urol Andol* 2003;75:179-86.
14. MILLER LJ, FISCHER KA, GORALNICK SJ i sur. Interleukin-10 levels in seminal plasma: implications for chronic prostatitis-chronic pelvic pain syndrome. *J Urol* 2002;167:753-6.
15. GERMANO G, ALLAVENA P, MANTOVANI A. Cytokines as a key component of cancer-related inflammation. *Cytokine* 2008;43:374-9.
16. PORTA C, LARGHI P, RIMOLDI M, TOTARO MG, ALLAVENA P, MANTOVANI A, SICA A. Cellular and molecular pathways linking inflammation and cancer. *Immunobiology* 2009;214:761-77.

17. LUZZI GA. Chronic prostatitis and chronic pelvic pain in men: aetiology, diagnosis and management. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002;16:253-6.
18. CHARALABOPOULOS K, KARACHALIOS G, BALTOGGIANIS D, CHARALABOPOULOS A, GIANNAKOPOULOS X, SOFIKITIS N. Penetration of antimicrobial agents into the prostate. *Chemotherapy* 2003;49:269-79.
19. PARNHAM MJ. Immunomodulatory approaches to the treatment of infections. *Infektol glasnik* 2011;31:15-27.
20. ERAKOVIĆ HABER V. Makrolidi - više od antibiotika. *Infektol glasnik* 2011;31:29-39.
21. CULIĆ O, ERAKOVIĆ V, PARNHAM MJ. Anti-inflammatory effects of macrolide antibiotics. *Eur J Pharmacol* 2001;429:209-29.
22. SHRYOCK TR, MORTENSEN JE, BAUMHOLTZ M. The effect of macrolides on the expression of bacterial virulence mechanisms. *J Antimicrob Ther* 1998;41:37-46.
23. VRANEŠ J. Effect of subminimal inhibitory concentrations of azithromycin on adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to polystyrene. *J Chemother* 2000;12:280-5.
24. TATEDA K, STANDIFORD TJ, PECHERE JC, YAMAGUCHY K. Regulatory effects of macrolides on bacterial virulence: potential role as quorum-sensing inhibitors. *Curr Pharm Des* 2004;10:3055-65.
25. PECHERE JC. Azithromycin reduces the production of virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* by inhibiting quorum sensing. *Jpn J Antibiot* 2001;54(Suppl.C):87-9.
26. PERLETTI G, SKERK V, MAGRI V i sur. Macrolides for the treatment of chronic bacterial prostatitis: an effective application of their unique pharmacokinetic and pharmacodynamic profile (Review). *Mol Med Report* 2011;4(6):1035-44.
27. GILBERT DN, MOELLERING RC, ELIOPOULOS GM, SANDE MA (eds): *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy*. 41st edition. Antimicrobial Therapy Inc., Sperrerville, VA, pp 67-72, 2011.
28. FOULDS G, MADSEN P, COX C i sur. Concentration of azithromycin in human prostatic tissue. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991;10:868-71.
29. GIANOPOULOS A, KORATZANIS G, GIAMARELLOS-BOURBOULIS EJ i sur. Pharmacokinetics of clarithromycin in the prostate: implications for the treatment of chronic abacterial prostatitis. *J Urol* 2001;165:97-99.
30. VRANČIĆ M, BANJANAC M, NUJIĆ K i sur. Azithromycin distinctively modulates classical activation of human monocytes *in vitro*. *Br J Pharmacol* 2012;165:1348-60.
31. WEISS T, SHALIT I, BLAU H i sur. Anti-inflammatory effects of moxifloxacin on activated human monocytic cells: inhibition of NF-kappaB and mitogen-activated protein kinase activation and of synthesis of proinflammatory cytokines. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:1974-82.
32. WERBER S, SHALIT I, FABIAN I, STEUER G, WEISS T, BLAU H. Moxifloxacin inhibits cytokine-induced MAP kinase and NF-kappaB activation as well as nitric oxide synthesis in a human respiratory epithelial cell line. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:293-300.
33. AZUMA Y, OHURA K. Alteration of constitutive apoptosis in neutrophils by quinolones. *Inflammation* 2003;27:115-22.
34. MAGRI V, MONTANARI E, ŠKERK V i sur. Fluoroquinolone-macrolide combination therapy for chronic bacterial prostatitis: retrospective analysis of pathogen eradication rates, inflammatory findings and sexual dysfunction. *Asian J Androl*. 2011;13:819-27.
35. STANCIK I, PLAS E, JUZA J, PFLÜGER H. Effect of antibiotic therapy on Interleukin-6 in fresh semen and postmasturbation urine samples of patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *Urology* 2008;72:336-9.
36. SAPADIN AN, FLEISCHMAYER R. Tetracyclines: nonantibiotic properties and their clinical implications. *J Am Acad Dermatol* 2006;54:258-65.
37. NAGASE H, WOESSNER JF. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274:21491-4.
38. WOESSNER JF. The family of matrix metalloproteinases. *Ann NY Acad Sci* 1994;732:11-21.
39. ROSSO F, GIORDANO A, BARBARISI M, BARBARISI A. From cell-ECM interactions to tissue engineering. *J Cell Physiol* 2004;199:174-80.
40. STEFFENSEN B, WALLON UM, OVERALL CM. Extracellular matrix binding properties of recombinant fibronectin type II-like modules of human 72-kDa gelatinase/type IV collagenase. High affinity binding to native type I collagen but not native type IV collagen. *J Biol Chem* 1995;270:11555-66.
41. BRAUN J, O'CONNOR C. Measurement of proteases and antiproteases in bronchoalveolar lavage fluid. *Eur Respir Rev* 1999;9:76-85.
42. WILSON MJ, WOODSON M, WIEHR C, REDDY A, SINHA AA. Matrix metalloproteinases in the pathogenesis of estradiol-induced nonbacterial prostatitis in the lateral prostate lobe of the Wistar rat. *Exp Mol Pathol*. 2004; 77:7-17.
43. ZORN B, IHAN A, KOPITAR AN, KOLBEZEN M, SESEK-BRISKI A, MEDEN-VRTOVEC H. Changes in sperm apoptotic markers as related to seminal leukocytes and elastase. *Reprod Biomed Online*. 2010;21:84-92.
44. DELELLA FK, JUSTULIN LA Jr, FELISBINO SL. Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) location in the ventral, lateral, dorsal and anterior lobes of rat prostate by immunohistochemistry. *Cell Biol Int*. 2007;31:229-34.
45. CORBITT CA, LIN J, LINDSEY ML. Mechanisms to inhibit matrix metalloproteinase activity: where are we in the development of clinically relevant inhibitors? *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2007;2:135-42.
46. SORSA T, TJÄDERHANE L, KONTTINEN YT i sur. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med* 2006;38:306-21.

**Adresa za dopisivanje:**

Prof. dr. sc. Alemka Markotić, dr. med.  
 Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević"  
 Odjel za znanstvena istraživanja  
 10000 Zagreb, Mirogojska 8  
 e-mail: alemka.markotic@bfm.hr

**Primljeno/Received:**

20. 2. 2012  
 February 20, 2012

**Prilvačeno/Accepted:**

24. 2. 2012.  
 February 24, 2012