

А.Ю.Абдуллаев¹, М.Р.Гулиев²

Компоненты системы "протеиназы–антипротеиназы" в индуцированной мокроте больных хронической обструктивной болезнью легких

1 – Центральная больница нефтяников Государственной нефтяной компании Азербайджанской Республики, отделение пульмонологии: AZ 1025, Азербайджан, г. Баку, ул. Ю.Сафарова, 17;

2 – Азербайджанский медицинский университет, кафедра биохимии: AZ1022, Азербайджан, г. Баку, ул. Бакиханова, 23

A. Yu. Abdullaev, M. R. Guliev

Protease–antiprotease system components in induced sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease

Summary

Results of investigation of protease–antiprotease enzyme activity in induced sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are presented in this article. In addition to infection, inflammation severity during acute exacerbation of COPD was shown to be influenced by smoking and protease–antiprotease biochemical imbalance, in particular, by the level of α_1 -protease inhibitor which regulates proteolytic enzyme activity.

Key words: COPD, induced sputum, infection, smoking, α_1 -proteinase inhibitor.

Резюме

В статье представлены результаты анализа активности ферментов системы "протеиназы–антипротеиназы", изученных в индуцированной мокроте больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Показано, что на выраженность воспаления при обострении ХОБЛ, помимо инфекционного фактора, влияют курение и дисбаланс в биохимической системе "протеиназы–антипротеиназы", в частности уровень α_1 -протеиназного ингибитора в индуцированной мокроте больных, регулирующего активность протеолитических ферментов.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, индуцированная мокрота, инфекция, курение, α_1 -протеиназный ингибитор.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – одна из важнейших проблем современного здравоохранения в связи с постоянно возрастающей распространенностью и смертностью от этого заболевания [1–3].

В здоровом организме существует динамическое равновесие системы "протеолиз–антипротеолиз", когда активность протеиназной системы регулируется эндогенными ингибиторами, содержащимися в плазме и слизистых секретах, в т. ч. α_1 -протеазным ингибитором. Наиболее важная роль α_1 -протеазного ингибитора заключается в ингибировании коллагеназы и эластазы, освобождающихся при активации и разрушении гранулоцитов и, следовательно, торможении тканевого протеолиза [4, 5]. Дисбаланс в системе "протеиназы–антипротеиназы" возникает как в результате повышенной продукции или активности протеиназ, так и в результате инактивации или пониженной продукции антипротеаз [6]. Избыток протеиназ, источником которых являются клетки-эффекторы воспаления, нарушает протеиназно-ингибиторный баланс, приводя к разрушению эластина и деструкции межальвеолярных перегородок.

На сегодняшний день концепция, что дисбаланс в системе "протеолиз–антипротеолиз" является доминирующим в развитии ХОБЛ, и участие α -проте-

азного ингибитора в патогенезе заболевания подтверждены в нескольких исследованиях [7, 8]. Увеличение протеолитической активности носит характер "взрыва" и направлено на разрушение чужеродных агентов и некротической ткани, однако наряду с этим деструкции подвергаются белки экстрацеллюлярного матрикса: эластин, коллаген, фибронектин, протеогликаны. Физиологическая роль α_1 -протеазного ингибитора состоит в предотвращении повреждения паренхимы легких протеазами и ингибировании их избытка. Изменение уровня α_1 -протеазного ингибитора и сдвиг в системе "протеиназы–антипротеиназы" занимает центральное место в патофизиологическом каскаде у лиц с хроническими обструктивными заболеваниями легких и дефицитом α_1 -протеазного ингибитора [9].

Целью исследования явилось изучение влияния инфекции, курения и уровня α_1 -протеиназного ингибитора на протеиназно-антипротеиназную активность в индуцированной мокроте у больных ХОБЛ.

Материалы и методы

Было проведено исследование индуцированной мокроты 80 больных ХОБЛ, находящихся на лечении в отделении пульмонологии Центральной больницы

нефтяников Государственной нефтяной компании Азербайджанской Республики. Из них 43 человека на момент исследования находились в состоянии обострения, 37 – в состоянии клинической ремиссии заболевания. Диагноз верифицировали согласно критериям GOLD, основанным на данных анамнеза, клинической картины заболевания, показателях вентилизации легких [10].

Индуцированной мокроту получали после ингаляций 3–5%-ного раствора NaCl с помощью ультразвукового небулайзера. Мокроту собирали в стерильные флаконы, измеряли ее объем и разводили 0,9%-ным физиологическим раствором в соотношении 1 : 3, гомогенизировали, затем центрифугировали в течение 15 мин. В индуцированной мокроте определяли активность нейтрофильной эластазы, трипсиноподобных протеиназ, α_2 -макроглобулина и α_1 -протеиназного ингибитора методом биохимического анализа с дальнейшим вычислением прироста оптической плотности в исследуемой пробе [11].

Статистическая обработка полученных результатов была проведена с помощью пакета прикладных программ *Statistica 6.0 for Windows*.

Результаты и обсуждение

Хроническому воспалению принадлежит особая роль в развитии ХОБЛ. На активность воспалительного процесса в дыхательных путях значимое влияние оказывает совокупность многих факторов, в т. ч. наличие инфекции и дефицит α_1 -протеиназного ингибитора [12]. В связи с этим нами был проведен сравнительный анализ активности протеиназ и ингибиторов протеолиза в мокроте обследованных больных в зависимости от наличия инфекции и уровня α_1 -протеиназного ингибитора. Нормальному уровню α_1 -протеиназного ингибитора соответствовали показатели в группе здоровых – $0,18 \pm 0,09$ ИЕ / мл. Обследованные больные были разделены на следующие группы: 1-ю группу составили пациенты с инфекционно-зависимым обострением в сочетании с дефицитом α_1 -протеиназного ингибитора ($0,08 \pm 0,02$ ИЕ / мл); 2-ю – с неинфекционно-зависимым обострением в сочетании с дефицитом α_1 -протеиназного ингибитора ($0,07 \pm 0,01$ ИЕ / мл); 3-ю – с инфекционно-зависимым обострением в сочетании с повышенной активностью α_1 -протеиназного ингибитора ($0,67 \pm 0,17$ ИЕ / мл); 4-ю – с неинфекционно-зависимым обострением в сочетании с повышенной активностью α_1 -протеиназного ингибитора ($0,41 \pm 0,13$ ИЕ / мл).

Анализ активности протеиназ и ингибиторов протеолиза в индуцированной мокроте обследованных больных показал, что наибольшая активность нейтрофильной эластазы отмечалась у лиц с высоким уровнем α_1 -протеиназного ингибитора и не зависела от наличия инфекции ($0,93 \pm 0,18$ нмоль / мин \times мл и $0,89 \pm 0,16$ нмоль / мин \times мл; $p > 0,05$). Активность трипсиноподобных протеиназ была максимальной при инфекционно-зависимом обост-

рении ХОБЛ, сочетающемся с дефицитом α_1 -протеиназного ингибитора ($4,96 \pm 1,21$ нмоль / мин \times мл). Максимальная активность α_2 -макроглобулина была зарегистрирована в группе больных с инфекционно-зависимым обострением в сочетании с повышенной активностью α_1 -протеиназного ингибитора ($0,33 \pm 0,029$ ИЕ / мл). Следовательно, на выраженность воспаления при обострении ХОБЛ влияет не только наличие инфекции, как основной причины обострения болезни, но и уровень α_1 -протеиназного ингибитора – основного ингибитора протеиназ, регулирующего активность протеолитических ферментов и, в первую очередь, нейтрофильной эластазы, активность которой в мокроте зависит в основном от уровня α_1 -протеиназного ингибитора.

На активность трипсиноподобных протеиназ и активность α_2 -макроглобулина в мокроте больных с обострением ХОБЛ оказывает влияние сочетание 2 факторов: различный уровень α_1 -протеиназного ингибитора и наличие инфекционно-зависимого воспаления, как основной причины обострения ХОБЛ. Увеличение протеолиза может быть обусловлено исходно низким уровнем α_1 -протеиназного ингибитора, повышенной активностью нейтрофильной эластазы либо их сочетанием.

Ведущим фактором риска возникновения ХОБЛ является курение, с увеличением распространенности которого связывают рост заболеваемости и смертности больных с этой патологией. На сегодняшний день неоспоримым является тот факт, что курение служит основной причиной воспалительного процесса в центральных и периферических бронхах и легочной паренхиме [13]. Нам представилось интересным провести сравнительное изучение активности биохимических показателей мокроты у больных с обострением ХОБЛ в зависимости от статуса курения (таблица).

Как видно из данных, приведенных в таблице, в мокроте у курящих, по сравнению с соответствующей группой некурящих больных ХОБЛ, отмечалась достоверно более высокая активность трипсиноподобных протеиназ ($4,81 \pm 0,78$ нмоль / мин \times мл у курящих больных по сравнению с $2,56 \pm 0,43$ нмоль / мин \times мл у некурящих; $p < 0,05$) и нейтрофильной эластазы ($1,26 \pm 0,13$ нмоль / мин \times мл у курящих

Таблица
Показатели активности компонентов системы "протеиназы–антипротеиназы" в индуцированной мокроте у курящих и некурящих больных ХОБЛ

Показатели	Больные ХОБЛ		p
	Курящие (n = 16)	Некурящие (n = 37)	
α_1 -протеиназный ингибитор, ИЕ / мл	$0,55 \pm 0,10$	$0,42 \pm 0,12$	$> 0,05$
α_2 -макроглобулин, ИЕ / мл	$0,01 \pm 0,001$	$0,01 \pm 0,001$	$> 0,05$
Трипсиноподобные протеиназы, нмоль / мин \times мл	$4,81 \pm 0,78$	$2,56 \pm 0,43$	$< 0,05$
Нейтрофильная эластаза, нмоль / мин \times мл	$1,26 \pm 0,13$	$0,87 \pm 0,30$	$< 0,05$

больных и $0,87 \pm 0,30$ нмоль / мин \times мл у некурящих; $p < 0,05$), что свидетельствует о влиянии курения на биохимические показатели мокроты у больных ХОБЛ.

Определенный интерес вызывает изучение сочетанного влияния курения и инфекции на активность протеолиза при обострении ХОБЛ. В результате проведенного исследования было установлено, что максимальная активность нейтрофильной эластазы в мокроте отмечалась при инфекционно-зависимом обострении ХОБЛ, как у курящих, так и у некурящих больных ($0,96 \pm 0,19$ нмоль / мин \times мл и $0,87 \pm 0,13$ нмоль / мин \times мл соответственно). При неинфекционно-зависимом обострении активность нейтрофильной эластазы в мокроте курящих больных составила $0,83 \pm 0,17$ нмоль / мин \times мл, а у некурящих — $0,51 \pm 0,10$ нмоль / мин \times мл. Следовательно, на активность нейтрофильной эластазы в мокроте больных оказывает влияние не только инфекция, но и курение.

Аналогичная динамика прослеживалась и при изучении влияния инфекции и курения на активность трипсиноподобных протеиназ больных при обострении ХОБЛ. Установлено, что при инфекционно-зависимом обострении активность трипсиноподобных протеиназ у некурящих больных была в 2 раза выше, чем при неинфекционно-зависимом обострении. Наряду с этим у курящих больных активность трипсиноподобных протеиназ также была вдвое выше при инфекционно-зависимом обострении, т. е. фактор курения оказывает такое же влияние на трипсиноподобную активность, как и инфекция.

При анализе активности ингибиторов протеолиза также были обнаружены значительные изменения их активности в мокроте под влиянием инфекции у курящих и некурящих больных ХОБЛ. Было установлено, что активность α_1 -протеиназного ингибитора не зависела от статуса курения, как при инфекционно-зависимых, так и неинфекционно-зависимых обострениях ХОБЛ, а зависела только от наличия инфекционного фактора. Так, инфекция достоверно повышала активность α_1 -протеиназного ингибитора у курящих в 2 раза, а у некурящих больных ХОБЛ — в 1,4 раза.

Активность α_2 -макроглобулина в мокроте при инфекционно-зависимом обострении у некурящих больных в 2 раза превышала таковую у курящих больных, в 9 раз — при неинфекционных обострениях у курящих и в 14 раз — у некурящих больных ХОБЛ.

Заключение

При изучении совместного влияния курения и инфекции на биохимические маркеры воспаления, определяемые в мокроте больных с обострением ХОБЛ, было установлено следующее:

1. Активность нейтрофильной эластазы достоверно выше при неинфекционно-зависимом обострении у курящих больных.

2. На активность трипсиноподобных протеаз мокроты оказывают влияние как курение, так и наличие инфекционно-зависимого обострения.
3. Активность α_1 -протеиназного ингибитора в мокроте выше при инфекционно-зависимом обострении ХОБЛ и не зависит от фактора курения.
4. Снижение активности α_2 -макроглобулина в мокроте курящих больных может быть связано с подавляющим воздействием такого сильного ксенобиотика, как табачный дым.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что на выраженность воспаления при обострении ХОБЛ, наряду с инфекционным фактором, значительное влияние оказывают курение, а также дисбаланс в системе "протеиназы—антипротеиназы", в частности уровень α_1 -протеиназного ингибитора в индуцированной мокроте больных, регулирующего активность протеолитических ферментов.

Литература

1. Авдеев С.Н. Хроническая обструктивная болезнь легких как системное заболевание. Пульмонология 2007; 2: 104–112.
2. Синапальников А.И., Воробьев А.В. Эпидемиология ХОБЛ: современное состояние актуальной проблемы. Пульмонология 2007; 6: 78–85.
3. Чучалин А.Г. Хроническая обструктивная болезнь легких. Клинические рекомендации. М.: Атмосфера; 2007.
4. Аверьянов А.В., Поливанова А.Э. Нейтрофильная эластаза и болезни органов дыхания. Пульмонология 2006; 5: 74–79.
5. Sanzharovskaya M., Varvyanskaya N., Yamkina N., Pecherikina I. Relationship between proteases / anti-proteases system in induced sputum and spirometry testing in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Eur. Respir. J. 2006; 28 (50): 634.
6. Будкова А.А., Акбашева О.Е., Рослякова Е.П. Активность эластазы и ее ингибиторов в индуцированной мокроте при ХОБЛ. 15-й Национальный конгресс по болезням органов дыхания. 1-й Учредительный конгресс Евроазиатского респираторного общества. Сборник тезисов. М.; 2005. 224.
7. Аверьянов А.В., Поливанова А.Э. Дефицит α_1 -антитрипсина и хроническая обструктивная болезнь легких. Пульмонология 2007; 3: 103–109.
8. Aldonyte R., Hutchinson E., Jin B. et al. Endothelial alpha-1-antitrypsin attenuates cigarette smoke induced apoptosis in vitro. COPD 2008; 5 (3): 153–162.
9. Abboud R.T. Pathogenesis of COPD. Part I. The role of protease/antiprotease imbalance in emphysema. J. Tuberc. Lung Dis. 2008; 12 (4): 361–367.
10. Чучалин А.Г. (ред.). Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (GOLD). Пересмотр 2007 г. (пер. с англ.). М.: Атмосфера; 2008. 100.
11. Нартикова В.Ф. Унифицированный метод определения активности α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека. Вопросы медицинской химии 1979; 25 (4): 494–499.
12. Шмелев Е.И. Воспаление — ключевой элемент прогрессирования хронической обструктивной болезни легких. Consilium medicum 2003; 7 (4): 5–7.

13. *Смотрова А.А., Санжаровская М.С., Акбашева О.Е., Варьянская Н.В.* Влияние длительного курения на функцию внешнего дыхания и протеаз-антипротеазную систему в бронхиальном регионе. Здоровье и образование в XXI веке: Материалы 9-й Междунар. науч.-практ. конф. М.; 2008. 452–453.

Информация об авторах

Абдуллаев Адалят Юсуф Оглы – зав. отделением пульмонологии "Центральной больницы нефтяников Государственной нефтяной компании Азербайджанской Республики"; тел.: (+994-50) 210-54-23; факс: (+994-12) 490-41-72; e-mail: dr_adalyat@adanet.az
Гулиев Мехман Рустам – доцент кафедры биохимии Азербайджанского медицинского университета; тел.: (+994-12) 495-35-66; факс: (+994-12) 495-38-70; e-mail: amu@azmeduni.com

Поступила 12.11.12

© Абдуллаев А.Ю., Гулиев М.Р., 2012

УДК 616.24-036.12-07:616.24-008.8:577.15