

СИСТЕМА ПРОТЕИНАЗ—АНТИПРОТЕИНАЗ У КУРИЛЬЩИКОВ И БОЛЬНЫХ ХОЗЛ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ЗАБОЛЕВАНИЯ

*И.В. Талалай, В.В. Ефимов, Л.М. Самохина,
В.И. Блажко, Л.С. Воейкова, А.Е. Замазий*

Институт терапии им. Л.Т. Малой АМН Украины, Харьков

Ключевые слова: ХОЗЛ, курение, кальпаины, ингибиторы протеиназ, функция внешнего дыхания.

Патогенез хронических обструктивных заболеваний легких (ХОЗЛ) достаточно изучен. Однако в последнее время все больше внимания уделяют исследованию механизмов развития их системных проявлений — системного воспаления, оксидативного стресса, остеопороза, дисплазии соединительной ткани, а также мышечной дисфункции и мышечной дистрофии [6—8].

Считают, что курение является одним из этиологических факторов ХОЗЛ. Вдыхаемый сигаретный дым ведет к десятикратному повышению содержания нейтрофилов в дистальных отделах респираторной системы, а также является инициатором оксидативного стресса в легких, который у больных ХОЗЛ носит системный характер [2, 6].

По данным отечественных исследователей наибольшее повреждающее действие табакокурения на дыхательную систему, в частности на дыхательные мышцы (ДМ), наблюдается на начальных стадиях заболевания ХОЗЛ. Однако на III стадии заболевания у курильщиков наблюдалось увеличение силы ДМ, что связано не с улучшением состояния пациента, а с включением дополнительных механизмов компенсации. У курящих, больных ХОЗЛ, эти механизмы формируются раньше, чем у некурящих больных [6].

Кальпаины — типичные внутриклеточные цистеиновые протеиназы, Ca^{2+} -зависимые. Они выявлены во многих клетках организма, в том числе и в клетках скелетных мышц, легочной ткани, тромбоцитах. Кальпаины способны осуществлять лимитированный протеолиз ферментов, что приводит к изменению их активности, расщеплению миофибрилярных белков, деструкции цитоскелета [1, 11, 12]. Активация кальпаинов происходит в условиях оксидативного стресса [1].

По данным некоторых исследователей, больные ХОЗЛ по мере прогрессирования заболевания теряют мышечную массу и силу, а миоциты претерпевают изменения в виде гипертрофии, а затем

дистрофии и некробиоза с разрастанием фиброзной ткани [7].

В литературе имеются данные, что особенности изменений в мышечной ткани при ХОЗЛ зависят от степени дыхательной недостаточности (ДН): от обратимых нарушений при легкой степени ДН до инвалидизации мышц при тяжелой степени. Наименьшие изменения происходят в диафрагме, что говорит о ее значительных компенсаторных возможностях. Кроме того, хроническая гипоксия изменяет силу ДМ и приводит к их хроническому утомлению из-за чрезмерной активации [6, 7, 8].

Кальпаины принимают участие в развитии воспалительных процессов, повреждении мышечных тканей, способствуют возникновению мускульных дистрофий, что связывают с нарушением функции этих протеиназ [11, 12, 13].

Регуляция активности протеиназ осуществляется при помощи α -1 ингибитора протеиназ (α ₁-ИП) и белка острой фазы воспаления α -2 макроглобулина (α ₂-МГ) [1, 11].

Цель исследования — изучение взаимосвязи между степенью функциональных нарушений дыхания и изменениями в системе кальпаины—ингибиторы протеиназ у курильщиков и больных ХОЗЛ разных стадий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 58 человек в возрасте от 43 до 70 лет (средний возраст $56,3 \pm 8,6$ года), из них: 16 активных курильщиков с индексом курения не менее 5 пачек-лет, не имеющих клинических и инструментальных данных, подтверждающих наличие бронхообструктивного синдрома; 22 больных ХОЗЛ I—II стадий и 20 больных ХОЗЛ III и IV стадий. Наличие и степень тяжести ХОЗЛ устанавливали в соответствии с критериями GOLD (1998) и приказом МЗ Украины № 499.

Исследование ФВД проводили на спирометре «Спиросифт-3000» (Япония) с анализом показате-

лей ОФВ₁, ФЖЕЛ, ОФВ₁/ФЖЕЛ, ПОС, МОС₇₅₋₂₅. Обратимость ОФВ₁ после ингаляции 200 мкг сальбутамола была менее 15%.

Трипсин-ингибиторную активность α_1 -ИП, активность α_2 -МГ, активность кальпаинов исследовали высокочувствительным ферментативным методом [3—5].

Все обследованные были разделены на три группы. I группу составили активные курильщики со стажем курения не менее 5 лет, во II группу вошли курильщики с ХОЗЛ I—II стадии, в III группу включили курильщиков с ХОЗЛ III—IV стадии. Клиническая характеристика групп больных приведена в табл. 1.

В качестве нормальных значений активности α_1 -ИП, α_2 -МГ и кальпаинов использовали показатели четырнадцати практически здоровых лиц с нормальным артериальным давлением, не имеющих сосудистых заболеваний в анамнезе, не страдающих аллергическими заболеваниями.

Количественные данные обрабатывали методом вариационной статистики с помощью приложения Microsoft Excell. Различия между средним арифметическим считали достоверным при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные исследования активности кальпаинов, трипсин-ингибиторной активности α_1 -ИП, активности α_2 -МГ представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, у курильщиков (I группа) наблюдается повышение активности кальпаинов в сыворотке крови до $(1,457 \pm 0,0205)$ г / (л × ч) ($P < 0,05$ относительно контроля) на фоне достоверного повышения активности α_2 -МГ и активнос-

ти α_1 -ИП. У больных II группы активность кальпаинов снижается до $(0,537 \pm 0,045)$ г / (л × ч), как по отношению к курильщикам без ХОЗЛ, так и по сравнению с нормальными значениями. Также у этих пациентов снижалась активность α_2 -МГ.

При ХОЗЛ III—IV стадий (III группа) происходит значительное снижение активности кальпаинов — до $(0,054 \pm 0,007)$ г / (л × ч), относительно контрольных значений и ХОЗЛ I—II стадий на фоне дальнейшего снижения активности α_2 -МГ.

Повышение активности кальпаинов у курильщиков без нарушения функции дыхания относительно контрольных значений может быть связано с начальными проявлениями оксидативного стресса, в условиях которого происходит активация кальпаинов [1]. Кроме того, под воздействием табачного дыма активируется протеинкиназа C, которая сама может способствовать активации кальпаинов [1, 2].

У курильщиков с ХОЗЛ с различными стадиями заболевания снижение активности кальпаинов на фоне уменьшения активности α_2 -МГ можно объяснить развитием воспаления в бронхолегочной системе, усугублением оксидативного стресса, который развивается в связи с основным заболеванием, а также с продолжением табакокурения. В этих условиях инициируются деструктивные и дистрофические процессы в дыхательной мускулатуре, в которых активное участие принимают комплексы кальпаин- α_2 -МГ и затем выводятся из организма [4].

В литературе также имеются данные, что под воздействием оксидативного стресса может происходить снижение активности кальпаинов в связи с окислением цистеина в их активном центре или в структуре протеинкиназы C [10].

Таблица 1. Клиническая характеристика обследованных пациентов

Показатель	I группа (n = 16)	II группа (n = 22)	III группа (n = 20)
Возраст, годы	46,7 ± 3,5	53,6 ± 5,2	57,6 ± 6,8
Длительность курения, годы	15,6 ± 2,7	24,6 ± 3,2	28,9 ± 4,9
Индекс курения, пачек/лет	14,8 ± 2,9	23,6 ± 3,1	30,8 ± 4,2
ФЖЕЛ, %	86,4 ± 5,1	71,6 ± 4,8	52,6 ± 4,6
ОФВ ₁ , %	83,7 ± 4,2	67,4 ± 5,2	38,6 ± 7,6

Таблица 2. Активность кальпаинов α_2 -МГ, трипсин-ингибиторная активность α_1 -ИП

Показатель активности, г / (л × ч)	I группа (n = 16)	II группа (n = 22)	III группа (n = 20)	Контроль (n = 14)
Кальпаины	1,457 ± 0,205*	0,537 ± 0,045	0,054 ± 0,007*	0,657 ± 0,105
α_2 -МГ	1,624 ± 0,324	0,212 ± 0,018*	0,124 ± 0,024*	1,581 ± 0,290
α_1 -ИП	7,573 ± 0,013	7,873 ± 0,263	7,067 ± 1,253	7,473 ± 0,055

Примечание. * Достоверность различий по сравнению с контролем, $P < 0,05$.

Снижение активности кальпаинов также может быть связано с уменьшением высвобождения их в кровь из клеток, что объясняется нарушением энергообразования в митохондриях [9]. Этот факт, вероятно, имеет место у курильщиков с ХОЗЛ на фоне дистрофических процессов в скелетной мускулатуре и других органах [6, 7].

Активность α_1 -ИП у курильщиков без ХОЗЛ имеет тенденцию к повышению. Наибольшая активность α_1 -ИП наблюдалась у курильщиков с ХОЗЛ I—II стадии и составила ($7,873 \pm 0,263$) г / (л × ч), что указывает на острую фазу воспаления у этих больных. Снижение активности α_1 -ИП у больных III—IV стадии по сравнению с больными ХОЗЛ I—II стадии, вероятно, свидетельствует о хронизации процесса и об истощении системы антипротеиназ.

ВЫВОДЫ

1. У курильщиков без ХОЗЛ наблюдается активация кальпаинов и α_2 -МГ на фоне нормальных значений активности α_1 -ИП.
2. У курильщиков с ХОЗЛ отмечено снижение активности кальпаинов в плазме крови на фоне снижения активности α_2 -МГ по сравнению с лицами контрольной группы.
3. Выявлено снижение активности кальпаинов и α_2 -МГ в сыворотке крови по мере прогрессирования заболевания.
4. Наблюдается повышение трипсин-ингибиторной активности α_1 -ИП у курильщиков на ранних стадиях ХОЗЛ и снижение его активности на поздних стадиях ХОЗЛ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Калиман П.А., Самохин А.А., Самохина Л.М. Активность Ca^{2+} -зависимых нейтральных протеиназ в органах крыс при введении им хлоридов кобальта и ртути // Укр. биохим. журн.— 2003.— Т. 75, № 1.— С. 104—106.
2. Кароли Н.А., Ребров А.П. Некоторые механизмы развития легочной гипертензии у больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких: Обзор // Терапевт. арх.— 2005.— № 3.— С. 87—93.
3. Патент України № 2071 МПК 12 Q 1/38. Спосіб визначення активності протеїназ або їх інгібіторів в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна, А.А. Дубінін.— Опубл. 25.12.97.— Бюл. № 6.— 6 с.
4. Патент України № 45357 МПК G01N33/48, A61B19/02. Набір для визначення активності кальпаїнів в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна, А.А. Самохін.— Опубл. 15.05.02.— Бюл. № 5.— 8 с.
5. Патент України № 72345 МПК G01N33/48, A61J1/00, C12T9/66. Набір для визначення активності α -2 макроглобуліну в біологічних рідинах / Л.М. Самохіна.— Опубл. 15.05.02.— Бюл. № 2.— 8 с.
6. Перцева Т.О., Мироненко О.В. Тютюнопаління як фактор формування дисфункції дихальних м'язів у хво-

рих на хронічні обструктивні захворювання легень // Укр. пульмонол. журн.— 2005.— № 2.— С. 47—49.

7. Платонова И.С. Морфологические изменения дыхательных мышц у больных хронической обструктивной болезнью легких с разной степенью дыхательной недостаточности // Пульмонология.— 2004.— № 5.— С. 23—27.

8. Феценко Ю.І. Хронічні обструктивні захворювання легень. Проблемні питання // Нова медицина.— 2005.— № 1 (18).— С. 18—20.

9. Целуйко В.И., Кравченко Н.А. Биохимические механизмы развития сердечной недостаточности // Укр. терапевт. журн.— 2004.— № 4.— С. 70—76.

10. Gopalakrishna R., Jake N S. Protein kinase C signaling and oxidative stress // Free Radic. Biol. Med.— 2000.— Vol. 28, N 5.— P. 1379—1386.

11. Cuzzocrea S, McDonald M.C., Mazzon E. Calpain inhibitor I reduces the development of acute and chronic inflammation // Am.J. Pathol.— 2000.— Vol. 157, N 6.— P. 2065—2079.

12. Sorimachi H., Kawabata Y. Calpain and pathology in view of structure-function relationships // Nippon Yakurigaku Zasshi.— 2003.— Vol. 122, N 1.— P. 21—29.

13. Tidball J.G., Spenser M.J. Calpains and muscular dystrophies // Int. J. Biochem. Cell Biol.— 2000.— Vol. 32, N 1.— P. 1—5.

СИСТЕМА ПРОТЕЇНАЗ—АНТИПРОТЕЇНАЗ У КУРЦІВ ТА ХВОРИХ НА ХОЗЛ НА РІЗНИХ СТАДІЯХ ЗАХВОРЮВАННЯ

I.V. Talalay, V.V. Yefimov, L.M. Samokhina, V.I. Blazhko, L.S. Voyeykova, A.E. Zamaziy

Наведено результати дослідження активності кальпаїнів, α -2 макроглобуліну та α -1 інгібітору протеїназ у сироватці крові курців без порушення функції дихання та курців з ХОЗЛ I—II та III—IV стадії захворювання. У курців з ХОЗЛ спостерігали зниження активності кальпаїнів, α -2 макроглобуліну та α -1 інгібітору протеїназ, пов'язане з підвищенням ступеня тяжкості захворювання.

PROTEINASE-ANTIPROTEINASE SYSTEM IN SMOKERS AND PATIENTS WITH COPD ON DIFFERENT DISEASE STAGES

I.V. Talalay, V.V. Yefimov, L.M. Samokhina, V.I. Blazhko, L.S. Voyeykova, A.E. Zamaziy

The article presents the research results of activity of blood calpains, α -1 proteinase inhibitor and α -2 macroglobulin in tobacco smokers without respiratory dysfunction and smokers with COPD of stage I-II and stage III-IV. In smokers with COPD the reduction of activity of calpains, α -1 proteinase inhibitor and α -2 macroglobulin was observed which was associated with the increase of disease severity.