

УДК 557.156.6:616.211/232-002.2-006

Ю. Клись, наук. співроб., С. Верьовка, д-р біол. наук
Державна установа "Інститут отоларингології імені проф. О.С. Коломійченка НАМН України", Київ

ЗМІНИ ПРОТЕОЛІЗНОГО БАЛАНСУ ПЛАЗМИ КРОВІ ХВОРИХ НА ЗАПАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ ТА НОВОУТВОРЕННЯ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

Проведено порівняльне дослідження компонентів систем протеолізу та гемостазу для з'ясування найбільш показових порушень у хворих із запальними, доброякісними та передраковими захворюваннями верхніх дихальних шляхів для визначення найбільш інформативних відмін.

Ключові слова: запалення, новоутворення, гемостатична система, протеоліз.

Вступ. Згідно даних сучасної наукової літератури, захворювання гортані посідають значне місце в патології ЛОР-органів. Саме в гортані найбільш часто локалізовано пухлиноподібні утворення як доброякісного, так і злоякісного характеру [1]. Рак гортані посідає перше місце серед злоякісних пухлин верхніх дихальних шляхів, сягаючи 65 – 70% від їх загальної кількості. Дані проведені в різних країнах епідеміологічних досліджень свідчать, що в 60% випадків розвитку раку гортані передують хронічні патології, що складають групу передракових захворювань. До них належать хронічний гіперпластичний ларингіт (ХГЛ), папіломатоз гортані (ПГ) дискератоз та інші. Імовірність малигнізації ХГЛ складає 60 – 65% протягом від 6 міс до 7 років з моменту виявлення захворювання, за ПГ злоякісна трансформація можлива протягом 10 та більше років у 8 – 20% [2, 3]. Актуальність проблеми ПГ зумовлена значною розповсюдженістю цього патологічного процесу, частим його рецидивуванням та схильністю до малигнізації [4-6]. При цьому диспластичні зміни епітелія у різних хворих мають неоднорідний характер, що ускладнює спостереження та визначення адекватних методів лікування [2]. Не менш проблематичними лишаються питання діагностики хронічного тонзиліту (ХТ). Це захворювання розповсюджене серед людей різних вікових груп, його частота постійно зростає, і, що найістотніше, з ним пов'язана велика кількість супутніх захворювань та ускладнень [7, 8].

Загальноновизнано, що виявлення будь-якої патології на ранніх, доклінічних стадіях розвитку процесу становить вагомий передумову для ефективної терапії та профілактики. Відомо, що клінічній стадії виявлення захворювання відповідає комплекс глибоко запущених порушень молекулярного та клітинного рівнів. Своєчасне виявлення та лікування передракових станів дає змогу попередити розвиток злоякісних новоутворень або виявити їх на ранніх, доклінічних, стадіях [9]. Тому удосконалення діагностики за рахунок виявлення додаткових критеріїв прогнозу розвитку передракових захворювань ЛОР-органів становить вкрай актуальну задачу. Вагомим підґрунтям для виявлення подібних критеріїв може бути комплексне дослідження біохімічних показників, виявлення тих, що становлять діагностичну цінність. Наша робота спрямована на порівняльне дослідження компонентів систем протеолізу та гемостазу для з'ясування найбільш показових порушень у хворих із запальними, доброякісними та передраковими захворюваннями верхніх дихальних шляхів.

Об'єкт та методи досліджень. Під спостереженням перебували 88 хворих із захворюванням ЛОР-органів. Доброякісні новоутворення порожнини носа і навколосових пазух (кісти верхньощелепних пазух, поліпозний етмоїдит та гаймороетмоїдит) було виявлено у 31 пацієнта. Другу групу складали хворі на хронічний тонзиліт в стадії декомпенсації (31 особа). До третьої групи увійшли 26 осіб із передраковими захворюваннями гортані – хронічним гіперпластичним ларингітом чи папіломатозом. Контрольну групу складали 27 практично здорових людей (донорів).

Показники системи гемостазу досліджувалися у бідній на тромбоцити плазмі, одержаній зі свіжої цитратної крові шляхом центрифугування протягом 20-ти хв в центрифугу ОПН-8 при частоті обертання 4000 об/хв.

Визначення загальної протеолітичної активності (ПРА) проводили за методом К.М.Веремєєнка та співавт., в основу якого покладено визначення розчинних аргінін-вмісних пептидів, що вивільнюються при розщепленні протаміна трипсин-подібними ферментами плазми крові. Кількісну оцінку ПРА виражали у нмоль аргініну (арг), що утворюється за 1 хв під дією 1 мл плазми [10].

Еластазо-подібну амідолітичну активність визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 410 нм за поглинанням пара-нітроаніліну, утвореного при розщепленні хромогенного синтетичного субстрату Suc-Ala₃-пара-нітроаніліду (в нмоль п-НА, утвореного під дією 1 мл плазми протягом 1 год) [11].

Рівні активності тромбіну визначали за часом (с) зсідання фібриногену [12] та за амідолітичною активністю, яку визначали спектрофотометрично за кількістю вивільненого пара-нітроаніліну, утвореного при розщепленні хромогенного синтетичного субстрату Tos-Gly-Pro-Arg-пара-нітроаніліду і виражали в нмоль п-НА, утвореного під дією 1 мл плазми протягом 1 хв [13]. Активованний частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ-тест) визначали за швидкістю утворення згустку плазми крові в умовах контактної активації каоліном та фосфоліпідної активації кефаліном. Протромбіновий час – визначали за часом (с) зсідання плазми крові при додаванні до неї тромбoplastину та кальцію хлориду [14].

Вміст антитромбіну III (АТ-III) в % досліджували за методом Abilgaard [13] et al., рівні α_2 – макроглобуліну (α_2M) та α_1 - інгібітора протеїназ (α_1IP) – згідно методів К.М.Веремєєнка і співавт. та виражали в г/л [10].

Для визначення концентрації фібриногену (г/л) використовували спектрофотометричний метод В.О. Беліцера та співавт. [15].

Кількість розчинного фібрину (мг%) визначали методом Т.В.Варецької і співавт. [16]. Фібринолітичну активність (ФА) визначали еуглобуліновим методом Kowarzik і Buluk за часом від утворення згустку фібрину до його розчинення (хв) [12].

Потенційну амідолітичну активність плазміногену в плазмі крові досліджували за гідролізом синтетичного хромогенного субстрату S-2251 (H-D-Val-Leu-Lys-пара-нітроанілід) і виражали у мкмоль вивільненого п-НА за 1 хв під дією 1 мл плазми [17].

Одержані дані було оброблено методом варіаційної статистики. Різниця вважалася вірогідною при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати дослідження загальної протеолітичної та еластазної активності, вміст їх інгібіторів та показники системи фібринолізу в плазмі крові хворих досліджуваних груп наведені в табл.1. Як бачимо, ПРА була статистично достовірно вищою у порівнянні з такою у осіб контрольної групи у пацієнтів як із доброякісними, так і передраковими захворюваннями верхніх дихальних шляхів. У хворих на хронічний тонзиліт відмічено підвищення цього показ-

ника на рівні тенденції. Еластазо-подібна активність не зазнавала значних змін у пацієнтів із цією патологією. У хворих із новоутвореннями ЛОР-органів спостерігається підвищення еластазної активності, особливо у пацієнтів із передраковими захворюваннями гортані, у яких збільшення її активності має статистично достовірний характер (у 1,5 рази) відносно показників практично здорових людей. Стосовно вмісту основних інгібіторів протеолітичних ферментів – $\alpha_2\text{M}$ та $\alpha_1\text{IP}$, слід зауважити, що рівень $\alpha_1\text{IP}$ у хворих на хронічний тонзиліт та доброякісні новоутворення носа і навколоносових пазух

знаходився на рівні контрольних значень, а в групі пацієнтів із передраковими захворюваннями гортані відмічено несуттєве зменшення його вмісту. Щодо $\alpha_2\text{M}$, його рівень незначно зменшувався у хворих із новоутвореннями обох груп, а у осіб із хронічним тонзилітом його зниження знаходилося на статистично достовірному рівні. Характерно, що при онкологічних захворюваннях цієї ж локалізації вміст $\alpha_2\text{M}$ вірогідно зменшується, що свідчить про високу компенсаторну роль цього білка як блокатора надмірних кількостей проактивованих протеїназ [18].

Таблиця 1. Протеолітична активність, активність еластази, вміст їх інгібіторів та показники системи фібринолізу в плазмі крові хворих на тонзиліт, доброякісні та передракові захворювання верхніх дихальних шляхів

Групи обстежених	ПРА, нмоль аргініну/ (хв·мл)	Активність еластази, нмоль п-НА/(год·мл)	Вміст $\alpha_1\text{IP}$, г/л	Вміст $\alpha_2\text{M}$, г/л	Фібринолітична активність, хв	Потенційна активність плазміногену, п-НА/(хв·мл)
Практично здорові люди (контроль)	55,5±3,2	9,2±1,0	2,00±0,08	2,00±0,09	237,0±5,0	0,57±0,02
Хворі:						
на хронічний тонзиліт	62,6±3,4	10,4±1,8	2,00±0,09	1,70±0,05 p<0,01	240,0±8,0	0,65±0,03 p<0,02
з доброякісними новоутвореннями порожнини носа і навколоносових пазух	65,3±2,9 p<0,02	12,1±2,9	2,00±0,20	1,60±0,20	238,0±6,0	0,63±0,02 p<0,02
з передраковими захворюваннями гортані	67,9±2,3 p<0,01	13,8±1,6 p<0,05	1,90±0,10	1,80±0,10	302,0±21,0 p<0,001	-

Примітка: p – вірогідність різниці між відповідними показниками у хворих і практично здорових людей

Таблиця 2. Показники системи зсідання крові в плазмі крові хворих на тонзиліт, доброякісні та передракові захворювання верхніх дихальних шляхів

Групи обстежених	Протромбіновий час, с	АЧТЧ-тест, с	Тромбіновий час, с	Амідолітична активність тромбіну, нмоль п-НА/(хв·мл)	АТ-III, %	Вміст фібриногену, г/л	Розчинний фібрин, мг%
Практично здорові люди (контроль)	23,5±0,8	43,0±0,6	15,0±0,2	9,6±1,0	100,0 ±2,7	2,2±0,1	4,3±0,4
на хронічний тонзиліт	25,0±0,7	46,0±1,3 p<0,05	15,6±0,2	11,8±1,4	109,0 ±3,9	2,6±0,2	3,3±0,3
з доброякісними новоутвореннями порожнини носа і навколоносових пазух	26,0±0,6 p<0,02	45,0±1,3	15,6±0,6	17,5±3,8 p<0,05	114,0 ±6,3	2,5±0,1 p<0,05	4,1±0,5
з передраковими захворюваннями гортані	27,0±0,8 p<0,01	44,5±1,1	-	-	-	3,1±0,2 p<0,001	-

Примітка: p – вірогідність різниці між відповідними показниками у хворих і практично здорових людей

Показники загальної фібринолітичної активності у хворих на хронічний тонзиліт та доброякісні новоутворення носа і навколоносових пазух знаходились в межах контрольних значень, тоді як у хворих з передраковими захворюваннями гортані відмічено достовірне уповільнення в 1,3 рази порівняно до показників норми. Потенційна активність плазміногену в обох досліджуваних групах була достовірно підвищеною. Характерно, що цей показник є підвищеним й за онкологічних захворювань ЛОР-органів.

Показники коагуляційної системи плазми крові наведено в табл.2. Як видно, показник протромбінового часу, котрий визначають за швидкістю утворення згустку, зазнає змін у всіх досліджуваних групах. Уповільнення утворення згустку у пацієнтів із хронічним тонзилітом спостерігається на рівні тенденції, тоді як у інших груп воно є достовірно підтверджено. У всіх досліджуваних групах показники тромбінового часу плазми крові не зазнавали істотних змін порівняно із показниками здорових осіб. Амідолітична активність тромбіну при хронічному тонзиліті зростала на рівні тенденції, тоді як у хворих з доброякісними новоутвореннями відмічено достовірно підвищення цього показника в 1,8 рази.

Час зсідання плазми крові в АЧТЧ-тесті статистично достовірно, хоч і незначно, зростає при хронічному тонзиліті, у решті груп характер цих змін був на рівні тен-

денції. Зростання вмісту фібриногену характерне для всіх пацієнтів, причому у хворих на хронічний тонзиліт та доброякісні новоутворення зміни мали помірний характер, на відміну від групи хворих із передраковими захворюваннями, у котрих вміст фібриногену збільшувався суттєво (в 1,4 рази). Вміст розчинного фібрину також практично не відрізнявся від значень контрольної групи у хворих із новоутвореннями, а при хронічному тонзиліті навіть знижувався. Вміст антитромбіну-III у всіх пацієнтів, які обстежувалися, мав тенденцію до підвищення порівняно його рівня у практично здорових осіб.

Висновки.

1. Показники загального протеолізу, амідолітичної тромбін-подібної та еластазо-подібної активностей, протромбінового часу та АЧТЧ-тесту підвищені у всіх обстежених хворих порівняно до контрольної групи.

2. Вміст інгібітору протеїназ $\alpha_2\text{M}$ був зниженим на рівні тенденції у хворих з доброякісними новоутвореннями та передраковими захворюваннями, тоді як у хворих на хронічний тонзиліт цей показник зменшений вірогідно. Показники вмісту $\alpha_1\text{IP}$ практично не відрізнялись від контрольних значень, а рівень АТ-III мав тенденцію до зростання.

3. Зміни протеолізу, фібринолітичної, амідолітичної тромбін-подібної та еластазо-подібної активностей та

протромбінового часу у хворих із новоутвореннями ЛОР-органів є більш вираженими порівняно до показників пацієнтів із запальними захворюваннями.

4. Отримані дані свідчать про інформаційну цінність показників протромбінового часу, загальної протеолітичної, еластазо-подібної та фібринолітичної активностей, котрі видаються перспективними для створення комплексного діагностичного індексу оцінки стану хворих на доброякісні та передракові захворювання.

Список використаних джерел

1. Котяннина О.В. Комплексная реабилитация и качество жизни больных с доброкачественными образованиями гортани : автореф. дис. канд. мед. наук : 14.00.04 / Котяннина Ольга Владимировна, Новосибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию. – Н., 2009. – 24 с.
2. Кондакова И.В. Оценка внеклеточного и внутриклеточного протеолиза при предопуховых и опухолевых заболеваниях гортани / И.В. Кондаков., Г.В. Какурина, Л.В. Спириин, О.В. Черемисина, О.В. Панкова, К.Ю. Меньшиков // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – № 3. – С. 45-50.
3. Махов В.Ф. Патогенетическое значение острофазовых белков и провоспалительных цитокинов в диагностике предраковых заболеваний и рака гортани : автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.04 / Махов Владимир Александрович, Новосибирская государственная медицинская академия МЗ РФ. – Н., 2004. – 20 с.
4. Свистушкин В.М. Папилломатоз гортани: современное состояние проблемы / В.М. Свистушкин, Д.М. Мустафаев // Вестник отоларингологии. – 2013. – №2. – С.79-85.
5. Барышев В.В. Современные аспекты изучения респираторного папилломатоза. Часть I. Этиология, патогенез, диагностика / В.В. Барышев, В.Г. Андреев, В.В. Попучиев, С.В. Ежов // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – № 5(35). – С. 67-72.
6. Солдатский Ю.Л. Рецидивирующий респираторный папилломатоз / Ю.Л. Солдатский // Вопросы современной педиатрии. – 2007. – Т.6. – №1. – С. 69-74.

Ю. Клысь, науч. сотр., С.Верева д-р биол. наук

Государственное учреждение "Институт отоларингологии им. проф. А.С. Коломийченко НАМН Украины", Киев, Украина

ИЗМЕНЕНИЯ ПРОТЕОЛИЗНОГО БАЛАНСА ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И НОВООБРАЗОВАНИЯХ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Провести сравнительное исследование компонентов системы протеолиза и гемостаза для выявления наиболее показательных изменений у больных с воспалительными заболеваниями и новообразованиями верхних дыхательных путей для определения наиболее информативных отличий.

Ключевые слова: воспаление, новообразования, гемостатическая система, протеолиз.

Yu.G. Klyś, researcher, S. Verevka, DSc.

National Academy of Medical Sciences of Ukraine prof. O.S. Kolomyichenko Institute of Otolaryngology, Kiev, Ukraine

ALTERATIONS OF PROTEOLYTIC BALANCE IN BLOOD PLASMA AT INFLAMMATORY DISEASES AND TUMORS OF UPPER RESPIRATORY TRACT

To undertake a comparative study of the indices of proteolytic and haemostatic systems of blood for exposure of the most informative ones at inflammatory diseases and tumors of upper respiratory tract.

Key words: inflammations, tumors, haemostatic system, proteolysis.

УДК 577.161.6/577.217

7. Армазов С.Г. Некоторые особенности течения хронического тонзиллита / С.Г. Армазов, И.В. Иванец // Вестник отоларингологии. – 2011. – №1. – С.55-57.

8. Паневин П.А. Оптимизация хирургической тактики при тонзиллярных кровотечениях : автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.04 / Паневин Павел Александрович, Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова. – Санкт-Петербург, 2008. – 20 с.

9. Коваленко С. Н. Проблемы диагностики хронического гиперпластического ларингита / С. Н. Коваленко, А. С. Лапченко, Д. Л. Муратов // Вестник отоларингологии. – 2006. – №4. – С.34-37.

10. Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и при патологии / К.Н. Веремеенко, О.П. Голобородько, А.И. Кизим – К., 1988. – 198 с.

11. Веремеенко К.Н. Определение активности эластазы и ее ингибиторов в сыворотке крови с помощью хромогенных субстратов / К.Н. Веремеенко, А.И. Кизим, А.Г. Терентьев // Клиническая и лабораторная диагностика. – 1992. – №5-6. – С. 58-61.

12. Балуда В.П. Лабораторные методы исследования системы гемостаза / В.П. Балуда, З.С. Баркаган, Е.Д. Гольдберг [и др.] – Т., 1980. – 313 с.

13. Abilgaard U. Antitrombin assay with new chromogenic substrates (S-2238 and chromozym TH) / U. Abilgaard, M. Lie, O.R. Odegard // Trombosis Research – 1977. – Vol.11, №4. – P.549-553.

14. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике / В.В. Меньшиков – М., 1987. – 368 с.

15. Беліцер В.О. Кількісне визначення фібриногену в плазмі крові людини / В.О. Беліцер, Т.В. Варецька, К.М. Веремеєнко та ін. // Лабораторна діагностика. – 1997. – №2. – С. 53-55.

16. Варецька Т.В. Определение растворимого фибрина в плазме крови / Т.В. Варецькая, Л.И. Михайловская, Л.А. Свистальская, Л.М. Ена // Клиническая и лабораторная диагностика. – 1992. – №7-8. – С. 10-14.

17. Friberger P. Methods for determination of plasmin, antiplasmin and plasminogen by means of substrate S-2251 / P. Friberger, M. Knös, S. Gustavsson, L. Aurell, G. Claesson // Haemostasis, 1978. – №7, P. 138-145.

18. Клысь Ю.Г. Асоційовані з мембранами компоненти ендогенної інтоксикації та їх роль в онкогенезі / Ю.Г. Клысь, С.В. Верева // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка: Серія "Біологія" – № 57. – 2011. – С. 18-20.

Надійшла до редколегії 16.10.15

Н. Струтинська, канд. біол. наук

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ

СІРКОВОДЕНЬ ЯК СИГНАЛЬНА МОЛЕКУЛА В СЕРЦЕВО-СУДИННІЙ СИСТЕМІ

Нещодавно сірководень (H₂S) був визнаний в якості важливої сигнальної молекули в серцево-судинній системі. Крім того, він модулює передачу нервового імпульсу, є тканинним цитопротектором та кисневим сенсором. Ендогенний H₂S продукується з L-цистеїну за допомогою цистатіонін-β-синтази (CBS), цистатіонін-γ-ліази (CSE) і 3-меркаптопіруватсульфотрансферази (3MST). На сьогодні H₂S визнається як третій газовий трансмітер на додаток до окису азоту і оксиду вуглецю. У цьому огляді представлено сучасні уявлення про фізіологічну та кардіопротекторну роль ендогенного і екзогенного H₂S, як регуляторного фактора в серцево-судинній системі.

Ключові слова: сірководень, L-цистеїн, NaHS, серце, судини.

Нині відомо, що сірководень (H₂S) – біологічно-активний газовий трансмітер, що ендогенно синтезується в тканинах ссавців ферментативним шляхом за допомогою ензимів і неферментативним перетворенням тіолів і тіол-вмісних сполук. Зовсім недавно виявлено, що ця молекула слугує в якості важливого сигнального медіатора в організмі людини і тварин [1,2]. Біо-

логічні ефекти ендогенного H₂S численні і стрімко розширюються. На сьогодні встановлено, що сірководень відіграє важливу роль у регуляції нервової (процеси синаптичної передачі), серцево-судинної (розслаблення гладеньких м'язів), імунної (протизапальний і цитопротекторний агент), сенсорної, шлунково-кишкової (вихід інсуліну) систем [3,4]. Відомо, що при різних патоло-