

© Л.М.Самохина, С.Н.Коваль, И.А.Снегурская, Д.К.Милославский, О.В.Мысниченко

УДК 616.12-008.331.1-092:547.857:577.156

*Л.М.Самохина, С.Н.Коваль, И.А.Снегурская, Д.К.Милославский, О.В.Мысниченко*

## **АКТИВНОСТЬ ЭЛАСТАЗ И ЭЛАСТАЗОИНГИБИТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ $\alpha$ -1-ИНГИБИТОРА ПРОТЕИНАЗ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ С УЧЕТОМ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ПУРИНОВ Институт терапии им.Л.Т.Малой АМН Украины (г. Харьков)**

Данная работа является фрагментом научной темы “Разработать способы прогнозирования развития, лечения и профилактики сердечно-сосудистых осложнений у больных артериальной гипертензией с метаболическим синдромом и разными вариантами нарушений пуринового обмена” (№ госрегистрации 0111U001126).

**Вступление.** Гипертензия – серьезная медицинская проблема, наблюдаемая у миллионов людей [11]. В течение последних десятилетий большое внимание исследователей привлекает проблема сочетания сердечнососудистых заболеваний (ССЗ), в частности артериальной гипертензии, с нарушениями обмена пуринов (НОП) [1]. К таким нарушениям относят гиперурикемию (ГУЕ) и снижение или повышение экскреции мочевой кислоты (МК) почками. Показана тесная взаимосвязь ГУЕ с абдоминальным ожирением. Выявлена высокая частота ГУЕ при ССЗ - до 70% случаев, что побудило к изучению ее роли в развитии и прогрессировании этих патологий.

Известно, что ключевым протеином, регулирующим кровяное давление является эпителиальный Na(+) канал (ENaC), потеря или функциональная мутация которого приводит к гипертензии [11]. Регуляция активации ENaC осуществляется протеазами, которые расщепляют внеклеточные домены этих каналов. Одна из этих протеиназ – эластаза (Эл). Известно, что активность Эл (сериновой, нейтрофильного происхождения) увеличивается при систолической гипертензии [7, 8, 12]. Увеличение общей активности Эл связывают с атеросклерозом и увеличением риска ССЗ [12]. Считают, что сывороточные эластазы могут быть включены в процесс кальцификации сосудов [7]. Известно также, концентрация Эл значительно увеличивается в сыворотке крови тучных женщин по сравнению с нетучными на стадии прегипертензии и при нормотензии [8]. Нарушение жирового (липидного) обмена сочетаются с НОП.

Снижение активности Эл наблюдали при ГБ II стадии на фоне активации металлоэластазы (МЭл) макрофагального происхождения, тиоловой эндотелиальной Эл (ЭЭл), что связывали с истощением Эл нейтрофилов в деструктивных процессах и включением ее высвобождения другими клетками [4]. Активация экспрессии макрофагов может быть обусловлена увеличением повреждающего действия механического и физико-химического характера на интерстиций, которое могут оказывать

кристаллы МК [1]. МК способна непосредственно вызывать нарушение функции эндотелия сосудов, вместе с тем во взаимоотношениях ГУЕ с инициацией эндотелиальной дисфункции имеются невыясненные вопросы.

Регуляция активности протеиназ в организме, в том числе эластаз, осуществляется с участием ингибиторов, которые блокируют их активность. Один из таких ингибиторов –  $\alpha$ -1-ингибитор протеиназ ( $\alpha$ -1-ИП).

**Цель работы** – исследовать активность эластаз различного происхождения и  $\alpha$ -1-ИП в сыворотке крови при гипертонической болезни (ГБ) с учетом НОП.

**Объект и методы исследования.** Обследовано 24 пациента с ГБ возрастом 39-60 лет. Больные были разделены на две сопоставимые по возрасту группы: с отсутствием НОП (n=12), из них 6 мужчин и 6 женщин, средний возраст – 47,2+3,4 лет и наличием НОП (n=12), из них 5 женщин и 7 мужчин, средний возраст – 46,4+3,1 лет. Стадию ГБ устанавливали согласно с рекомендациями Украинского общества кардиологов 2008 г. Исследуемые группы представляли пациентами с ГБ II стадии, 1-2 степени.

Контрольная группа представлена 14 здоровыми донорами, средний возраст 34,8+1,9 лет.

НОП определяли по уровню МК, которую оценивали уриказным фотометрическим методом с использованием наборов «Cormay», Польша.

В сыворотке крови определяли активность Эл (общая активность), ЭЭл, МЭл и эластазоингибиторную активность (ЭИА)  $\alpha$ -1-ИП высокочувствительным ферментативным методом, как описано ранее [2, 3]. Концентрацию белка определяли методом Бредфорда.

В работе использовали пероксидазу хрена, эластазу, ФСФ, моноодацетат фирмы “ICN” (США), Ala-Ala фирмы Fluka (Германия), этилендиаминтетраацетат, альбумин сыворотки быка (Россия), полистироловые плашки (Италия) и фотометр-анализатор иммуноферментный Humanreader №2106-1709 фирмы “Human” (Германия).

Статистическую обработку данных проводили по методу Стьюдента-Фишера с использованием программного обеспечения Excel.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Отмечено снижение активности эластаз и ЭИА  $\alpha$ -1-ИП в сыворотке крови при ГБ как с НОП, так и без них (**табл.**). При этом указанное снижение имеет более выраженный характер у больных ГБ без НОП,

**Активность эластаз и эластазоингибиторная активность  $\alpha$ -1-ингибитора протеиназ в сыворотке крови при гипертонической болезни с учетом нарушений обмена пуринов (НОП), Ед/мг белка**

Группа	Активность эластазы	Активность металлоэластазы	Активность эндотелиальной эластазы	Эластазо-ингибиторная активность $\alpha$ -1-ингибитора протеиназ
Контроль	1,565+0,527	1,84+0,56	8,801+1,333	121,62+0,49
	n=14	n=13	n=12	n=6
ГБ без НОП	0,056+0,011*	0,14+0,04*	0,111+0,040***	57,78+11,83**
	n=11	n=11	n=11	n=12
ГБ с НОП	0,204+0,088*	0,25+0,11*	0,124+0,035***	79,70+10,60*
	n=12	n=11	n=9	n=12

**Примечание:** \*, \*\*, \*\*\* - степень вероятности различий по сравнению с контролем <0,05, <0,01, <0,001, соответственно.

хотя статистически различия проявляются лишь в степени вероятности различий по сравнению с контролем ЭИА  $\alpha$ -1-ИП: в группе без НОП изменения более значимые ( $p < 0,01$ ).

Снижение по сравнению с контролем активности сериновой Эл (нейтрофильного происхождения) может быть обусловлено истощением возможностей ее высвобождения, учитывая значимую роль данной Эл в формировании патологического процесса на стадии прегипертензии [8], в результате потери или функциональной мутации эпителиального Na(+) канала (ENaC) [11], при оксидативном стрессе [5]. При этом выявленная большая активность Эл у пациентов с НОП по сравнению с таковой у лиц без НОП согласуется с данными исследований других авторов, которые, как уже было отмечено выше, обнаружили аналогичный эффект при сравнении показателей у тучных женщин по сравнению с контрольными нетучными женщинами, кроме того, у тучных женщин с прегипертензией по сравнению с нормотензивными [8].

Наличие низкой по сравнению с контролем активности МЭл (макрофагального происхождения) в сыворотке крови может свидетельствовать об отсутствии у данных пациентов с ГБ уратного поражения почек, в частности хронического тубулоинтерстициального нефрита (ТИН) без конкрементов [1]. Но повышение активности МЭл у больных с НОП, по сравнению с пациентами без НОП, может быть обусловлено активацией макрофагов под влиянием кристаллов МК. Активации макрофагов, постоянно присутствующих в интерстициальной ткани, отводится ключевое место в поражении почек при ТИН.

Наличие низкой активности ЭЭл в сыворотке крови больных ГБ независимо от наличия НОП может быть результатом участия данной эластазы в формировании патологического процесса на стадии прегипертензии и обусловлено истощением возможностей высвобождения. Кроме того, указанное снижение активности ЭЭл можно рассматривать как звено компенсаторной реакции организма и/или так называемого самолимитирующего патологического процесса механизма [1, 9]. Известно, что основные физиологические детерминанты

жесткости большой артерии – структурные элементы артериальной стенки, тонус гладкой мускулатуры и среднее АД [12]. Среди различных структурных белков эластин является основным «эластическим» элементом артерий. Сериновые протеазы, в том числе Эл, активность которых повышена на стадии прегипертензии [5, 8, 11], способны разрушать эластин [12]. В результате этого может нарушиться высвобождение ЭЭл.

Повышение ЭИА  $\alpha$ -1-ИП при ГБ с НОП может быть обусловлено антиоксидантными эффектами МК и ее способностью таким образом оказывать защитное действие на сосудистую стенку и проявлять антиатерогенные эффекты [1, 9]. Эти процессы, как и в случае с ЭЭл, можно рассматривать как звенья компенсаторной реакции организма и/или самолимитирующего патологического процесса механизма. Это предположение согласуется с повышением у данной категории больных активности эластаз (нейтрофильного и макрофагального происхождения) по сравнению с больными без НОП, которое свидетельствует о сбалансированности изменений в системе эластаза- $\alpha$ -1-ИП. В результате активность эластаз имеет тенденцию к нормализации после значительного ее снижения на предыдущей стадии формирования патологического процесса, при отсутствии НОП.

**Выводы.**

1. Активность эластаз и ЭИА  $\alpha$ -1-ИП в сыворотке крови при ГБ находится на уровне ниже контрольного значения независимо от наличия НОП, что может быть обусловлено истощением возможностей их синтеза и/или высвобождения на стадии прегипертензии.

2. Активность Эл, МЭл выше у пациентов с ГБ с НОП и сбалансирована повышением ЭИА  $\alpha$ -1-ИП.

**Перспективы дальнейших исследований.**

Перспективным является исследование активности эластаз и ЭИА  $\alpha$ -1-ИП у пациентов ГБ с различной степенью выраженности НОП как в сыворотке крови, так и в моче для более четкого выяснения механизмов их участия в развитии патологического процесса на фоне увеличения содержания МК в крови.

### Список литературы

1. Коваль С.Н. Нарушения пуринового обмена и артериальная гипертензия / С.Н.Коваль, В.В.Божко, О.В.Мысниченко // Украинский ревматологический журнал. - 2009. - Т.38, №4. - С.75-80.
2. Пат. 45068 Україна, МПК (2004) G01N33/48. Набір для визначення активності ендотеліальної еластази в біологічних рідинах. / Самохіна Л.М., Максимова Н.А. - № u 2001042735; заяв. 23.04.01; Опубл.: 15.06.2004. - Бюл.№6. - 6 с.
3. Самохіна Л.М. Еластази за умов алкоголь-залежної гіпертензії у щурів різної статі / Л.М.Самохіна, В.В.Ломачо // Вісник проблем біології та медицини. - 2011. - Вип. 1. - С.165-169.
4. Самохіна Л.М. Еластази, катепсин G та продукти перекісного окислення ліпідів у хворих на гіпертонічну хворобу з супутнім цукровим діабетом 2-го типу / Л.М.Самохіна, С.М.Коваль, Т.Г.Старченко [и др.] // Медична хімія. - 2004. - №4. - С.68-72.
5. Самохіна Л.М. Химаза, тонин і еластаза у крыс при окислителном стрессе, вызванном введением хлорида кобальта. / Л.М.Самохіна, А.А.Самохин // Укр. біох. журн. - 2001. - Т.73, №5. - С.47-51.
6. Boisseau M.R. Leukocyte involvement in the signs and symptoms of chronic venous disease. Perspectives for therapy / M.R.Boisseau // Clin. Hemorheol. Microcirc. - 2007. - V.37, №3. - P.277-290.
7. Bouvet C. Sequential activation of matrix metalloproteinase 9 and transforming growth factor beta in arterial elastocalcinosis. / C.Bouvet, S.Moreau, J.Blanchette [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. - 2008. - V.28, №5. - P.856-862.
8. El-Eshrawy M.M. Elevated serum neutrophil elastase is related to prehypertension and airflow limitation in obese women / El-Eshrawy M.M., El-Adawy E.H., Mousa A.A. [et al.] // BMC Womens Health. - 2011. - V.11, №1. - P.1.
9. Nieto F.G. Uric acid and serum antioxidant capacity: a reaction to atherosclerosis? / F.G.Nieto, C.Iribaren, N.D.Gross [et al.] // Atherosclerosis. - 2000. - V.148. - P.131-139.
10. Raam B.J. Granulocyte colony-stimulating factor delays neutrophil apoptosis by inhibition of calpains upstream of caspase-3 / B.J. van Raam, A.Drewniak, V.Groenewold [et al.] // Blood. - 2008. - V.112. - №5. - P.2046-2054.
11. Rotin D. ENaC and its regulatory proteins as drug targets for blood pressure control / D.Rotin, L.Schild // Curr Drug Targets. - 2008. - V.9, №8. - P.709-716.
12. Yasmin Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and Serum Elastase Activity Are Associated With Systolic Hypertension and Arterial Stiffness / Yasmin, S.Wallace, C.M.McEniery [et al.] // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. - 2005. - V.25. - P.372.

УДК 616.12-008.331.1-092:547.857:577.156

#### **АКТИВНОСТЬ ЭЛАСТАЗ И ЭЛАСТАЗОИНГИБИТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ $\alpha$ -1-ИНГИБИТОРА ПРОТЕИНАЗ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ С УЧЕТОМ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ПУРИНОВ**

**Самохіна Л.М., Коваль С.Н., Снегурская И.А., Милославский Д.К., Мысниченко О.В.**

**Резюме.** Активность эластаз и эластазоингибиторная активность (ЭИА)  $\alpha$ -1-ингибитора протеиназ ( $\alpha$ -1-ИП) в сыворотке крови при гипертонической болезни (ГБ) находится на уровне ниже контрольного значения независимо от наличия нарушений обмена пуринов (НОП), что может быть обусловлено истощением возможностей их синтеза и/или высвобождения на стадии прегипертензии. Активность эластазы, металлоэластазы выше у пациентов с ГБ с НОП и сбалансирована повышением ЭИА  $\alpha$ -1-ИП.

**Ключевые слова:** эластаза, металлоэластаза, эндотелиальная эластаза,  $\alpha$ -1-ингибитор протеиназ, сыворотка крови, гипертоническая болезнь, нарушения обмена пуринов.

УДК 616.12-008.331.1-092:547.857:577.156

#### **АКТИВНІСТЬ ЕЛАСТАЗ І ЕЛАСТАЗОІНГІБІТОРНА АКТИВНІСТЬ $\alpha$ -1-ІНГІБІТОРА ПРОТЕЇНАЗ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ПРИ ГІПЕРТОНІЧНІЙ ХВОРОБІ З УРАХУВАННЯМ ПОРУШЕНЬ ОБМІНУ ПУРИНІВ**

**Самохіна Л.М., Коваль С.М., Снігурська І.О., Милославський Д.К., Мисніченко О.В.**

**Резюме.** Активність еластаз і еластазоінгібіторна активність (ЕІА)  $\alpha$ -1-інгібітора протеїназ ( $\alpha$ -1-ІП) в сироватці крові при гіпертонічній хворобі (ГХ) знаходиться на рівні нижче контрольного значення незалежно від наявності порушень обміну пуринів (ПОП), що може бути обумовлено вичерпанням можливостей їх синтезу і/або вивільнення на стадії прегіпертензії. Активність еластази, металоеластази вище у пацієнтів з ГХ с ПОП і збалансована підвищенням ЕІА  $\alpha$ -1-ІП.

**Ключові слова:** еластаза, металоеластаза, ендотеліальна еластаза,  $\alpha$ -1-інгібітор протеїназ, сироватка крові, гіпертонічна хвороба, порушення обміну пуринів.

UDC 616.12-008.331.1-092:547.857:577.156

#### **Elastases Activities And Elastase-Inhibitory Activity Of $\alpha$ -1-Proteinase Inhibitor In Blood Serum At Hypertension Into Account Of Purine Metabolism Disturbance**

**Samokhina L.M., Koval S.N., Snegurskaya I.A., Miloslavsky D.K., Mysnichenko O.V.**

**Summary.** Elastase activity and elastase-inhibitory activity (EIA) of alpha-1 proteinase inhibitor ( $\alpha$ -1-PI) in blood serum at hypertension are found on the level below control value independently from existence of purine metabolism disturbance (PMD), that may be due to exhaust of possibilities of its synthesis and/or released on prehypertension stage. Elastase, metalloelastase activities are over in hypertension patients with PMD and are balanced to EIA of  $\alpha$ -1-PI increase.

**Key words:** elastase, metalloelastase, endothelial elastase, alpha-1 proteinase inhibitor, blood serum, hypertension, purine metabolism disturbance.

Стаття надійшла 21.10.2011 р.