



Абатуров А.Е.¹, Волосовец А.П.², Худяков А.Е.¹

¹ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины», г. Днепр, Украина

²Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Нозоспецифические особенности редокс-процессов при муковисцидозе

For cite: Zdorov'ye Rebenka. 2017;12(7):860-864. doi: 10.22141/2224-0551.12.7.2017.116193

Резюме. В обзоре литературы изложены современные данные об особенностях редокс-процессов, происходящих в просвете респираторного тракта при муковисцидозе

Ключевые слова: заболевания органов дыхания; антиоксидантная система

Введение

Данная статья является продолжением серии предыдущих публикаций, посвященных нозоспецифическим особенностям антиоксидантной системы при заболеваниях органов дыхания.

Муковисцидоз

У больных муковисцидозом наблюдается повышение уровня маркеров оксидантного стресса, которые свидетельствуют об усилении перекисного окисления липидов, окисления белков и деградации ДНК [23, 24]. В экспериментальных условиях установлено, что в бронхоальвеолярной жидкости респираторного тракта мышей с нокаутом гена трансмембранного регуляторного протеина муковисцидоза (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator — CFTR/ABCC7) отмечаются биохимические и морфологические признаки оксидантного стресса. В цитоплазматическом пространстве эпителиоцитов клеточной линии с делецией гена CFTR/ABCC7 отмечается очень высокий уровень генерации супероксида аниона радикала (O_2^-) и концентрации перекиси водорода (H_2O_2), по всей вероятности, митохондриального генеза, так как муковисцидоз ассоциирован с низкой экспрессией DUOX2 [17]. У больных муковисцидозом высокая генерация активированных кислородсодержащих метаболитов (АКМ) в респираторном тракте

обеспечивается преимущественно нейтрофилами, выраженный и стойкий приток которых в просвет дыхательных путей в ответ на действие хемоаттрактантов является характерной особенностью процесса воспаления при данном заболевании [26, 35].

Показано, что мыши с нокаутом гена *Cybb* высоко восприимчивы к определенным штаммам *Burkholderia cepacia*, которые часто поражают больных муковисцидозом [26, 29].

Отличительной особенностью воспаления слизистой оболочки бронхиального дерева при муковисцидозе от других хронических воспалительных заболеваний органов дыхания является снижение экспрессии iNOS [7, 8, 28]. Данная особенность воспалительного процесса, наблюдаемая при муковисцидозе, вероятно, обусловлена высокой продукцией асимметричного NG,NG-диметил-L-аргинина (ADMA), который является естественным ингибитором активности ферментов pNOS и eNOS [1]. По всей вероятности, при муковисцидозе ADMA играет определенную роль не только в снижении генерации NO, но и в увеличении продукции O_2^- и пероксинитрита. Снижение продукции NO сопряжено с дефицитом образования S-нитрозотиолов, которые, как известно, обладают антимикробными свойствами. S-нитрозотиолы усиливают биение реснитчатого эпителия, расслабляют гладкие мышцы респираторного тракта и предотвращают

развитие тахифилаксии к β_2 -агонистам. Терапия S-нитрозотиолами при муковисцидозе способствует оксигенации крови [9, 16].

Снижение уровня генерации NO у больных муковисцидозом коррелирует с риском инфицирования *Pseudomonas aeruginosa* и со степенью внешнесекреторной недостаточностью поджелудочной железы. Также низкий уровень генерации NO способствует формированию обструкции дыхательных путей [30]. С другой стороны, высокий уровень нитритов и нитратов в бронхоальвеолярной жидкости больных муковисцидозом является важным фактором, определяющим колонизацию денитрифицирующих микроорганизмов — *Pseudomonas*, *Aspergillus* и других (рис. 1) [22].

Одним из самых распространенных белков в бронхоальвеолярной жидкости является муцин, который не только определяет вязкость мокроты, но и выполняет антиоксидантные функции. В настоящее время у человека идентифицировано 20 муциновых генов (*MUC1*, *MUC2*, *MUC3A*, *MUC3B*, *MUC4*, *MUC5AC*, *MUC5B*, *MUC6*, *MUC7*, *MUC8*, *MUC9*, *MUC11*, *MUC12*, *MUC13*, *MUC15*, *MUC16*, *MUC17*, *MUC18*, *MUC19*, *MUC20*) [11]. Увеличение генерации АКМ сопровождается повышением экспрессии гена муцина и увеличением секреции муцина, в результате чего повышается уровень антиоксидантной защиты респираторного тракта. В физиологических условиях основную ответственность за вязкость слизи респираторного тракта несут гелеобразующие муцины — *MUC5AC*, продуцируемого бокаловидными клетками, и *MUC5B*, секретлируемого подслизистыми железами бронхиального дерева. При хронических инфекционно-воспалительных заболеваниях эту функцию в основном выполняют ДНК и F-актин. Несколько групп исследователей показали, что у больных муковисцидозом наблюдается достоверное снижение содержания *MUC5AC* и *MUC5B* [19, 31]. Концентрация муцина в мокроте у больных муковисцидозом соответствует возрастной норме, и только при инфицировании респираторного тракта бактериями *Pseudomonas aeruginosa* происходит постепенное и быстрое снижение содержания муцина [33]. Markus O. Henke и соавт. [33] предполагают, что снижение уровня содержания муцина обусловлено его деградацией за счет увеличения активности сериновых протеаз, а не подавления продукции муцина. У больных муковисцидозом именно за счет дегидратации муцина наблюдается высокая вязкость мокроты, которая определяет снижение эффективности дренажной функции респираторного тракта [2, 32]. Anitilde M. González-Guerrero и соавт. [37] продемонстрировали наличие положительной связи между недостаточностью функционирования CFTR и гиперсекрецией *MUC1* в респираторном тракте при муковисцидозе. Вполне вероятно, что индуцированное фосфорилирование транспортного хлоридного канала CFTR может привести к конформационным изменениям других белков мембраны, которые участвуют в индукции

сигнальных *MUC1*-ассоциированных путей. Также муцин защищает патогенные бактерии, в частности *Pseudomonas aeruginosa*, от нейтрофильного киллинга. Предлагают использовать фармакологическое ингибирование синтеза муцина в качестве нового направления лечения больных с муковисцидозом [2, 10, 14, 32].

Протеин CFTR является цАМФ-активируемым анионным трансмембранным каналом, который представлен на апикальной поверхности мембраны различных эпителиальных клеток. Данный канал является основным проводником ионов Cl^- , но также участвует в процессах трансмембранного перехода аниона SCN^- , глутатиона [4, 15]. Протеин мутированного гена *CFTR/ABCC7* теряет способность транспортировать из клетки в люмен анионы SCN^- , что приводит к снижению пула SCN^- на апикальной наружной поверхности цитоплазматической мембраны эпителиоцитов слизистой оболочки бронхов. Особенно низкий уровень концентрации SCN^- отмечается у детей, больных муковисцидозом (28–56 мкмоль). Согласно математической модели, нарушение функционирования DUOX и дефицит анионов SCN^- у больных муковисцидозом не может компенсироваться даже гиперпродукцией лактопероксидазы (lactoperoxidase — LPO). Нарушение LPO-ассоциированного образования тиоцианита (OSCN^-) сопровождается достоверным снижением уровня неспецифической защиты респираторного тракта у больных муковисцидозом [4, 36].

В мокроте больных муковисцидозом также наблюдается высокое содержание миелопероксидазы (myeloperoxidase — MPO), которая, как известно, используя H_2O_2 , катализирует образование мощной бактерицидной хлорноватистой кислоты (HOCl). Фермент MPO также, участвуя в окислении тирозиновых аминокислотных остатков протеинов, обуславливает образование 3-нитротирозинов, дитирозинов и 3-хлортирозинов в просвете респираторного тракта больных муковисцидозом. Установлено, что MPO приводит к снижению активности eNOS, также способствуя уменьшению объема генерации NO [20, 21].

Для больных муковисцидозом характерен низкий уровень экспрессии всех трех изоформ супероксиддисмутазы (superoxide dismutase — SOD) в эпителиальных клетках трахеи и поджелудочной железы [30].

При муковисцидозе наблюдается низкий уровень концентрации GSH в бронхоальвеолярной жидкости, сыворотке крови, нейтрофилах. Основная причина, определяющая низкое содержание восстановленной сульфгидрильной формы глутатиона (GSH), до настоящего времени остается неизвестной. Предполагается, что мальабсорбция, сопровождающая муковисцидоз, обуславливает уменьшение всасывания белков и может способствовать снижению содержания GSH. Однако вполне вероятно, что снижение уровня GSH в бронхоальвеолярной жидкости респираторного тракта

больных муковисцидозом связано с нарушением функционирования CFTR/ABCC7. В 1989 году John R. Riordan и соавт. [12] впервые определили, что нарушение функционирования CFTR/ABCC7, представляющего хлоридный канал, лежит в основе развития муковисцидоза. Протеин CFTR является представителем семейства протеинов мультилекарственной резистентности (Multidrug-Resistance like Protein — MRP), которые принимают участие в трансмембранном перемещении GSH. Глутатион, ингибируя CFTR АТФазу, переключает функционирование протеина CFTR с транспорта ионов хлора на транслокацию GSH [18]. Ограничение функциональных возможностей CFTR сопровождается нарушением транспортировки GSH. С другой стороны, высокие уровни окисленного глутатиона (GSSG), наблюдаемые у больных муковисцидозом, ингибируют активность CFTR. По всей вероятности, ингибирование активности CFTR связано с его глутатионированием [6]. Снижение внеклеточного содержания GSH обусловлено не только нарушением его транспорта через CFTR, но и ускорением глутатионового цикла, о чем свидетельствует повышение активности γ -глутамилтрансферазы (gamma-glutamyltransferase — GGT) у детей с муковисцидозом. Одним из механизмов повышения концентрации GGT в мокроте является перенос данного фермента рекрутированными нейтрофилами в очаг воспаления [2, 5]. Известно, что GSH ингибирует деградацию ингибирующего комплекса I κ B α , в связи с чем низкий уровень GSH в клетках больных муковисцидозом предопределяет про-

лонгированную активацию фактора транскрипции NF- κ B и, как следствие, длительность воспалительного процесса слизистой оболочки бронхиального дерева. Трансактивность NF- κ B является одним из молекулярных компонентов, определяющих хронический характер воспалительного процесса ре-

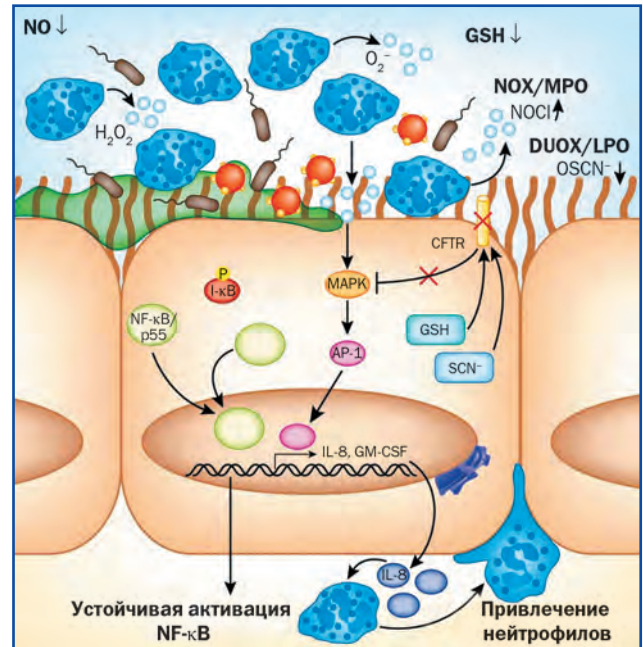


Рисунок 2. Нозоспецифические особенности редокс-процессов, происходящих в просвете респираторного тракта при муковисцидозе [3, модификация]

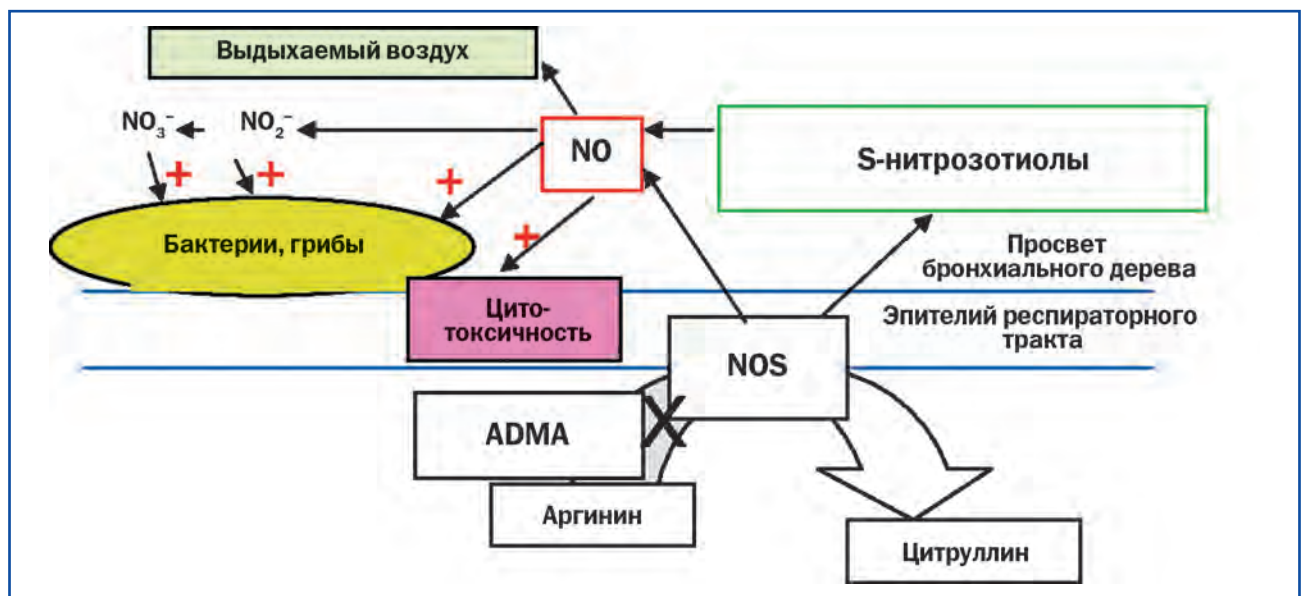


Рисунок 1. Особенности утилизации NO в респираторном тракте у больных муковисцидозом [16]
 Примечание: у больных муковисцидозом в респираторном тракте отмечается избыточная продукция ADMA, который ингибирует генерацию NO, окисляющегося до нитритов (NO₂⁻) и нитратов (NO₃⁻), и процесс образования S-нитрозотиолов. Высокий уровень содержания ADMA, препятствуя генерации NO, проявляет как саногенетическое действие — снижает выраженность цитотоксического действия NO на эпителиоциты респираторного тракта и препятствует росту денитрифицирующих микроорганизмов, так и патогенетическое влияние — ингибирует формирование S-нитрозотиолов, которые являются эндогенными бронходилататорами, активаторами мукоцилиарного клиренса и ингибиторами роста микроорганизмов.

спираторного тракта у больных с муковисцидозом. Введение внутрь или ингаляционно GSH достоверно снижает активность клинических проявлений воспалительного процесса бронхиального дерева у больных муковисцидозом [30]. Развитие инфекционно-воспалительного поражения респираторного тракта при муковисцидозе не сопровождается повышением уровня содержания GSH в бронхоальвеолярной жидкости [25, 27, 34].

Нозоспецифические особенности редокс-процессов, происходящих в просвете респираторного тракта при муковисцидозе, в целом представлены на рис. 2.

Изменения редокс-процессов способствуют развитию воспаления и существенно снижают потенциал неспецифической защиты слизистой оболочки бронхиального дерева у больных муковисцидозом [3, 13].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии какого-либо конфликта интересов при подготовке данной статьи.

References

1. Grasmann H, Al-Saleh S, Scott JA, et al. Asymmetric dimethylarginine contributes to airway nitric oxide deficiency in patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011 May 15;183(10):1363-8. doi: 10.1164/rccm.201012-1995OC.
2. Cantin AM, White TB, Cross CE, Forman HJ, Sokol RJ, Borowitz D. Antioxidants in cystic fibrosis. Conclusions from the CF antioxidant workshop, Bethesda, Maryland, November 11-12, 2003. *Free Radic Biol Med.* 2007 Jan 1;42(1):15-31. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.09.022.
3. Cohen TS, Prince A. Cystic fibrosis: a mucosal immunodeficiency syndrome. *Nat Med.* 2012 Apr 5;18(4):509-19. doi: 10.1038/nm.2715.
4. Lorentzen D, Durairaj L, Pezzulo AA, et al. Concentration of the antibacterial precursor thiocyanate in cystic fibrosis airway secretions. *Free Radic Biol Med.* 2011 May 1;50(9):1144-50. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.02.013.
5. Corti A, Franzini M, Cianchetti S, et al. Contribution by polymorphonuclear granulocytes to elevated gamma-glutamyltransferase in cystic fibrosis sputum. *PLoS One.* 2012;7(4):e34772. doi: 10.1371/journal.pone.0034772.
6. Cooper AJ, Pinto JT, Callery PS. Reversible and irreversible protein glutathionylation: biological and clinical aspects. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2011 Jul;7(7):891-910. doi: 10.1517/17425255.2011.577738.
7. Darling KE, Evans TJ. Effects of nitric oxide on *Pseudomonas aeruginosa* infection of epithelial cells from a human respiratory cell line derived from a patient with cystic fibrosis. *Infect Immun.* 2003 May;71(5):2341-9. PMID: 12704103.
8. Gotoh T, Mori M. Nitric oxide and endoplasmic reticulum stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Jul;26(7):1439-46. doi: 10.1161/01.ATV.0000223900.67024.15.
9. Grasmann H, Ratjen F. Nitric oxide and L-arginine deficiency in cystic fibrosis. *Curr Pharm Des.* 2012;18(5):726-36. PMID: 22229575.
10. Haley CL, Colmer-Hamood JA, Hamood AN. Characterization of biofilm-like structures formed by *Pseudomonas aeruginosa* in a synthetic mucus medium. *BMC Microbiol.* 2012 Aug 18;12:181. doi: 10.1186/1471-2180-12-181.
11. Hauber HP, Foley SC, Hamid Q. Mucin overproduction in chronic inflammatory lung disease. *Can Respir J.* 2006 Sep;13(6):327-35. PMID: 16983448.
12. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science.* 1989 Sep 8;245(4922):1066-73. PMID: 2475911.
13. Hartl D, Gaggari A, Bruscia E, et al. Innate immunity in cystic fibrosis lung disease. *J Cyst Fibros.* 2012 Sep;11(5):363-82. doi: 10.1016/j.jcf.2012.07.003.
14. Lambiase A, Catania MR, Rossano F. Anaerobic bacteria infection in cystic fibrosis airway disease. *New Microbiol.* 2010 Jul;33(3):185-94. PMID: 20954436.
15. Livraghi A, Randell SH. Cystic fibrosis and other respiratory diseases of impaired mucus clearance. *Toxicol Pathol.* 2007 Jan;35(1):116-29. doi: 10.1080/01926230601060025.
16. Marozkina NV, Gaston B. Nitrogen balance in the ecosystem of the cystic fibrosis lung. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011 May 15;183(10):1290-2. doi: 10.1164/rccm.201102-0288ED.
17. Velsor LW, Kariya C, Kachadourian R, Day BJ. Mitochondrial oxidative stress in the lungs of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein mutant mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2006 Nov;35(5):579-86. doi: 10.1165/rcmb.2005-0473OC.
18. Ballatori N, Hammond CL, Cunningham JB, Krance SM, Marchan R. Molecular mechanisms of reduced glutathione transport: role of the MRP/CFTR/ABCC and OATP/SLC21A families of membrane proteins. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005 May 1;204(3):238-55. doi: 10.1016/j.taap.2004.09.008.
19. Henke MO, John G, Germann M, Lindemann H, Rubin BK. MUC5AC and MUC5B mucins increase in cystic fibrosis airway secretions during pulmonary exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007 Apr 15;175(8):816-21. doi: 10.1164/rccm.200607-1011OC.
20. Van Der Vliet A, Nguyen MN, Shigenaga MK, Eiserich JP, Marelich GP, Cross CE. Myeloperoxidase and protein oxidation in cystic fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000 Sep;279(3):L537-46. PMID: 10956629.
21. Chapman AL, Morrissey BM, Vasu VT, et al. Myeloperoxidase-dependent oxidative metabolism of nitric oxide in the cystic fibrosis airway. *J Cyst Fibros.* 2010 Mar;9(2):84-92. doi: 10.1016/j.jcf.2009.10.001.
22. Gaston B, Ratjen F, Vaughan JW, et al. Nitrogen redox balance in the cystic fibrosis airway: effects of antipseudomonal therapy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Feb 1;165(3):387-90. doi: 10.1164/ajrccm.165.3.2106006.
23. Galli F, Battistoni A, Gambari R, et al; Working Group on Inflammation in Cystic Fibrosis. Oxidative stress and antioxidant therapy in cystic fibrosis. *Biochim Biophys Acta.* 2012 May;1822(5):690-713. doi: 10.1016/j.bbadis.2011.12.012.
24. Lezo A, Biasi F, Massarenti P, Calabrese R, Poli G, Santini B, Bignamini E. Oxidative stress in stable cystic fibrosis patients: do we need higher antioxidant plasma levels? *J Cyst Fibros.* 2013 Jan;12(1):35-41. doi: 10.1016/j.jcf.2012.06.002.
25. Ballatori N, Krance SM, Marchan R, Hammond CL. Plasma membrane glutathione transporters and their roles in cell physiology and pathophysiology. *Mol Aspects Med.* 2009 Feb-Apr;30(1-2):13-28. doi: 10.1016/j.mam.2008.08.004.
26. Pongnimitprasert N, El-Benna J, Foglietti MJ, Gougerot-Pocidal MA, Bernard M, Braut-Boucher F. Potential role of the "NADPH oxidases" (NOX/DUOX) family in cystic fibrosis. *Ann Biol Clin (Paris).* 2008 Nov-Dec;66(6):621-9. doi: 10.1684/abc.2008.0285.
27. Cacciatore I, Cornacchia C, Pinnen F, Mollica A, Di Stefano A. Prodrug approach for increasing cellular glutathione levels. *Molecules.* 2010 Mar 3;15(3):1242-64. doi: 10.3390/molecules15031242.
28. Dötsch J, Puls J, Klimek T, Rascher W. Reduction of neuronal and inducible nitric oxide synthase gene expression in patients with cystic fibrosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2002 Apr;259(4):222-6. PMID: 12064512.
29. Rada B, Hably C, Meczner A, et al. Role of Nox2 in elimination of microorganisms. *Semin Immunopathol.* 2008 Jul;30(3):237-53. doi: 10.1007/s00281-008-0126-3.
30. Rottner M, Freyssinet JM, Martínez MC. Mechanisms of the noxious inflammatory cycle in cystic fibrosis. *Respir Res.* 2009 Mar 13;10:23. doi: 10.1186/1465-9921-10-23.

31. Rubin BK. Mucus structure and properties in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev.* 2007 Mar;8(1):4-7. doi: 10.1016/j.prrv.2007.02.004.
32. Rubin BK. Mucus, phlegm, and sputum in cystic fibrosis. *Respir Care.* 2009 Jun;54(6):726-32; discussion 732. PMID: 19467160.
33. Henke MO, John G, Rheineck C, Chillappagari S, Naehrlich L, Rubin BK. Serine proteases degrade airway mucins in cystic fibrosis. *Infect Immun.* 2011 Aug;79(8):3438-44. doi: 10.1128/IAI.01252-10.
34. Roum JH, Buhl R, McElvaney NG, Borok Z, Crystal RG. Systemic deficiency of glutathione in cystic fibrosis. *J Appl Physiol* (1985). 1993 Dec;75(6):2419-24. PMID: 8125859.
35. Hayes E, Pohl K, McElvaney NG, Reeves EP. The cystic fibrosis neutrophil: a specialized yet potentially defective cell. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2011 Apr;59(2):97-112. doi: 10.1007/s00005-011-0113-6.
36. Conner GE, Wijkstrom-Frei C, Randell SH, Fernandez VE, Salathe M. The lactoperoxidase system links anion transport to host defense in cystic fibrosis. *FEBS Lett.* 2007 Jan 23;581(2):271-8. doi: 10.1016/j.febslet.2006.12.025.
37. González-Guerrico AM, Cafferata EG, Radrizzani M, et al. Tyrosine kinase c-Src constitutes a bridge between cystic fibrosis transmembrane regulator channel failure and MUC1 overexpression in cystic fibrosis. *J Biol Chem.* 2002 May 10;277(19):17239-47. doi: 10.1074/jbc.M112456200.

Получено 08.11.2017 ■

Абатуров О.Є.¹, Волосовець О.П.², Худяков О.Є.¹

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро, Україна

²Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Нозоспецифічні особливості редокс-процесів при муковісцидозі

Резюме. В огляді літератури викладено сучасні дані щодо особливостей редокс-процесів, що відбуваються в просвіті респіраторного тракту при муковісцидозі.

Ключові слова: захворювання органів дихання; антиоксидантна система

A.E. Abaturov¹, A.P. Volosovets², A.E. Khudyakov¹

¹State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

²Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Nosospecific features of redox processes in cystic fibrosis

Abstract. The review of the literature presents current data on the characteristics of redox processes occurring in the respiratory tract in cystic fibrosis.

Keywords: diseases of the respiratory system; antioxidant system