УДК 616.24+616.233-002-036.12]-003.6-018.2-008.9

В.А. Капустник, О.Г. Мельник

Харківський національний медичний університет

ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ В СПОЛУЧНІЙ ТКАНИНІ ПРИ ПНЕВМОКОНІОЗІ І ХРОНІЧНОМУ ПИЛОВОМУ БРОНХІТІ

Досліджено стан сполучної тканини у хворих на пневмоконіоз і хронічний пиловий бронхіт шляхом визначення в крові вмісту метаболітів, що беруть участь в її обмінних процесах. Виявлено суттєве зниження при пневмоконіозі співвідношення гексоза-ГАГ/гексоза-ГП, активності альфа-1-антитрипсину, альфа-2-макроглобуліну на фоні підвищення співвідношення зв'язаний оксипролін/вільний оксипролін, активності нейтрофільної еластази, плазмового фібронектину. При хронічному пиловому бронхіті встановлено суттєве підвищення співвідношення гексози-ГАГ/гексози-ГП, активності еластази на фоні зниження співвідношення зв'язаний оксипролін/вільний оксипролін, а також зміну в протеїназоінгібіторній системі з переважанням протеїназної активності.

Ключові слова: *пилові захворювання легень, сполучна тканина, метаболічні процеси.*

Значне місце в структурі легеневої патології займають професійні захворювання органів дихання. Останні є найбільш частою формою профпатології, тому що різні види промислових аерозолів превалюють за розповсюдженістю над іншими промисловими негативними факторами. Високу розповсюдженість серед осіб, які контактують з пилом, отримали пневмоконіоз і хронічний пиловий бронхіт (ХПБ) [1]. Питання патогенезу пилового процесу в легенях залишаються до кінця не з'ясованими, що обмежує проведення адекватної терапії, погіршує прогноз цих захворювань [2]. Запально-деструктивні процеси, викликані патологічною дією інгаляційних пошкоджуючих факторів, призводять до змін у стінці бронхіального древа, паренхімі легень, легеневих судинах. В їх основі у більшості випадків лежать суттєві порушення метаболічних процесів у сполучній тканині [1]. Сполучній тканині належить важлива роль у забезпеченні динамічної стабільності метаболізму в організмі, реалізації міжклітинних, міжтканинних, міжорганних комунікативних взаємодій [3]. Тому викликає інтерес поглиблене вивчення можливих порушень стану сполучної тканини при пневмоконіозі і ХПБ. Деталізація такого важливого ланцюга дає можливість уточнити уявлення про зміни, що відбуваються при цих захворюваннях, та визначити їх роль у патогенезі.

Метою даного дослідження було оцінити стан сполучної тканини у хворих на пневмоконіоз і ХПБ шляхом визначення в крові вмісту метаболітів, що беруть участь в її обмінних процесах.

Матеріал і методи дослідження. Було сформовано дві групи хворих з підтвердженим діагнозом пневмоконіоз і ХПБ. Пацієнти проходили обстеження й лікування в клініці Інституту гігієни праці та професійних захворювань Харківського національного медичного університету. Першу групу склали 67 хворих на пневмоконіоз, другу – 25 хворих на ХПБ. У контрольну групу увійшло 24 практично здорових особи. Хворі і практично здорові особи за віком і статтю були зіставлені.

Вміст загальних гексоз, гексозаглікозаміногліканів (ГАГ) і глікопротеїнів (ГП) у сироватці крові визначали за реакцією з орциновим реактивом фотометричним методом при довжині хвилі 540 нм [4]. Вміст сіалових кислот визначали за допомогою діагностичного набору «Сиалотест-80» (РеаХим, РФ) методом, що базується на реакції сіалової кислоти зі специфічним індикатором. Вміст вільного та зв'язаного окси-

© *В.А. Капустник, О.Г. Мельник, 2012*

проліну в сироватці крові оцінювали за методом Шараєва [5]. Активність еластази (КФ 3.4.21.37) у плазмі крові визначали за допомогою діагностичних тест-систем Human Elastase ELISA TEST KIT (Німеччина) імуноферментним методом. Активність альфа-1-антитрипсину, альфа-2-макроглобуліну в сироватці крові визначали комплексним методом з використанням субстрату N-бензоїл-L-аргінінпаранітроаніліду [6]. Вміст плазмового фібронектину визначали за допомогою імуноферментної тест-системи. Для перевірки гіпотез щодо рівності генеральних середніх двох незалежних, незв'язаних вибірок використовували t-критерій Стьюдента з попередньою перевіркою нормальності розподілу варіант [7].

Результати та їх обговорення. У хворих на пневмоконіоз у сироватці крові спостерігалося недостовірне збільшення порівняно з контролем рівня загальних гексоз на 33 % на фоні достовірного зменшення на 40 % гексоз, що входять до складу ГАГ (табл. 1). Вміст гексоз, що входять до складу ГП, при цьому мав тенденцію до достовірного збільшення на 27 %. Такі результати можуть вказувати на деякий спад синтезу протеогліканів. У хворих на ХПБ вміст загальних гексоз достовірно підвищувався порівняно з контролем у середньому на 104 % й залишався достовірно збільшеним і порівняно з пневмоконіозом на 66 %. Рівень гексоз у складі ГАГ суттєво підвищувався порівняно як з контролем, так і з пневмоконіозом відповідно в 4 і 7 разів. При цьому вміст гексоз у складі ГП підвищувався порівняно з контролем на 84 % та з пневмоконіозом на 45 %. При пневмоконіозі, як свідчать отримані дані, спостерігається зменшення співвідношення гексоза-ГАГ/гексоза-ГП до (0,043±0,005) ум. од., у контролі (0,0862±0,009) ум. од., а при ХПБ, навпаки, збільшення до (0,192±0,021) ум. од. Збільшення цього індексу в останньому випадку переконливо вказує на метаболічні зсуви, зумовлені деструктивними процесами у сполучнотканинних структурах, зокрема інтерстиційного матриксу легеневої тканини. Тривалий запальний процес, що спостерігається при ХПБ, викликає її деструкцію. Зменшення індексу гексоза-ГАГ/гексоза-ГП у хворих на пневмоконіоз скоріше свідчить про дезорганізаційні процеси у сполучнотканинних структурах і використання ГАГ у процесі формування колагенових волокон.

Вміст сіалових кислот при пневмоконіозі достовірно підвищувався на 26 % порівняно з контролем, що підтверджує наявність запального процесу (табл. 1). При ХПБ цей показник практично не змінювався, але залишався недостовірно зниженим на 15 % порівняно з показником при пневмоконіозі.

Пневмоконіоз являє собою інтерстиційне фіброзне захворювання легень. У фіброзну реакцію звичайно залучена активація фібробластів легень, синтез і метаболізм компонентів сполучної тканини, зокрема колагену й еластину. В сироватці крові обстежуваних було визначено вміст вільного та зв'язаного оксипроліну. Так, у хворих на пневмоконіоз вміст вільного оксипроліну складав (19,65±2,14) мкмоль/л, у хворих на ХПБ – (16,72±1,54) мкмоль/л ($p<0,05$), а в контролі – (11,88±0,95) мкмоль/л; вміст зв'язаного оксипроліну – відповідно (24,15±2,74), (11,69±1,23) мкмоль/л ($p<0,05$) та (9,32±0,89) мкмоль/л.

У пацієнтів з пневмоконіозом виявлено підвищення вмісту як вільного, так і зв'язаного оксипроліну порівняно з контролем відповідно на 65 і 159 %. Такі результати свідчать про високу активність процесів синтезу колагену. Зв'язаний оксипролін крові розглядають як маркер синтезу цього білка сполучної тканини. Але у цих хворих

Таблиця 1. Вміст гексоз і сіалових кислот у сироватці крові хворих на пневмоконіоз і хронічний пиловий бронхіт (ХПБ) (M±m)

Показник	Контроль (n=24)	Хворі на пневмоконіоз (n=67)	Хворі на ХПБ (n=25)
Загальні гексози, г/л	0,97±0,14	1,19±0,09	1,98±0,23*#
Гексози ГАГ, г/л	0,077±0,007	0,046±0,005*	0,323±0,031*#
Гексози ГП, г/л	0,902±0,092	1,143±0,125*	1,659±0,175*#
Сіалові кислоти, ммоль/л	2,27±0,19	2,86±0,34*	2,42±0,21

Примітка. $p<0,05$;* достовірність порівняно з контролем; # порівняно з хворими на пневмоконіоз. Тут і в табл. 2.

спостерігалося також і підвищення вільного оксипроліну – маркера розпаду колагену. Паралельне збільшення двох форм оксипроліну може свідчити про одночасне посилення синтезу й розпаду колагену. Співвідношення зв'язаний оксипролін/вільний оксипролін у хворих на пневмоконіоз достовірно підвищувалося й складало (1,21±0,16) ум. од., в контролі – (0,79±0,084) ум. од. Це означає переважання процесів синтезу колагену над активністю процесів його деградації. У пацієнтів з ХПБ вміст вільного та зв'язаного оксипроліну також достовірно збільшувався відповідно на 41 і 25 %. Такі результати свідчать про посилення катаболізму колагену та незначну активацію його анаболізму. Розрахунок у даному випадку співвідношення зв'язаний оксипролін/вільний оксипролін складає (0,71±0,073) ум. од., що підтверджує переважання деструктивних процесів.

Основним ферментом, що пошкоджує еластичні структури бронхолегеневої системи, є нейтрофільна еластаза, яка здатна викликати деградацію не тільки еластину, але й нативного колагену, протеогліканів дихальних шляхів [8]. При пневмоконіозі і ХПБ у плазмі крові виявлено достовірне збільшення активності еластази відповідно на 110 і 59 % порівняно з контролем. У хворих на пневмоконіоз активність залишалася збільшеною на 32 % порівняно з ХПБ (табл. 2). Ці результати збігаються з даними щодо стимулюючої активності нейтрофільної еластази на продукцію бронхіального секрету та здатності подавляти циліарну активність епітелію, поглиблюючи тим самим перебіг захворювання. Крім того, можна припустити, що нейтрофільна еластаза є одним з факторів розвитку фіброзу легеневої тканини у хворих на пневмоконіоз. Цей фермент є міцним активатором матриксних металопротеїназ, вплив яких сприяє розвитку склеротичних процесів і фіброзу [9].

В плазмі крові пацієнтів з пневмоконіозом і ХПБ спостерігалося зниження відповідно на 38 і 27 % порівняно з контролем основного інгібітора еластази – альфа-1-антитрипсину. Менш виразна динаміка спостерігалася й для активності альфа-2-макроглобуліну. Зниження останнього може бути зумовлено активацією протеолізу, зв'язуванням протеїназ та виведенням комплексу з кровоносного русла [10].

Відомо, що альвеолярні макрофаги здатні виділяти медіатори, що сприяють переміщенню в інтерстицій фібробластів, які продукують структури сполучної тканини з формуванням пневмофіброзу [11]. До таких медіаторів належить фібронектин – один з ключових білків міжклітинного матриксу, неколагеновий структурний глікопротеїн, що синтезується та виділяється у міжклітинний простір багатьма клітинами, зокрема фібробластами. У хворих на пневмоконіоз визначили достовірне збільшення рівня фібронектину в плазмі крові порівняно з контролем на 130 %. При цьому вміст фібронектину у хворих на ХПБ практично не відрізнявся від такого в контролі, але був достовірно зниженим порівняно з таким при пневмоконіозі на 54 % (табл. 2). Значне підвищення вмісту плазмового фібронектину при пневмоконіозі переконливо свідчить про активацію процесів колагеноутворення. Це дозволяє розцінювати даний показник як предиктор ризику формування професійної легеневої патології.

Таблиця 2. Вміст еластази, альфа-1-антитрипсину, альфа-2-макроглобуліну, фібронектину в плазмі крові хворих на пневмоконіоз і хронічний пиловий бронхіт (ХПБ) (M±m)

Показник	Контроль (n=24)	Хворі на пневмоконіоз (n=67)	Хворі на ХПБ (n=25)
Еластаза, нг/мл	59,16±5,23	124,16±13,14*	94,02±10,17*#
Альфа-1-антитрипсин, мкмоль/(с·л)	10,12±1,08	6,27±0,69*	7,43±0,71*
Альфа-2-макроглобулін, мкмоль/(с·л)	1,16±0,12	0,86±0,09*	0,94±0,08*
Фібронектин, нг/мл	314,8±35,7	742,9±80,4*	338,9±39,2#

У цілому аналіз отриманих результатів свідчить про суттєві порушення з боку сполучної тканини при досліджуваних професійних патологіях. Невід'ємними особливостями пневмоконіозу і ХПБ є тривалий запальний процес, недостатність матриксу сполучної тканини, дисбаланс у протеїназо-інгібіторній системі та між анаболічними і катаболічними процесами.

Висновки

1. Для хронічного пилового бронхіту домінуючим є розвиток деструктивних процесів у сполучнотканинних структурах брон-

холегеневої системи, що підтверджується суттєвим підвищенням у крові співвідношення гексоза-ГАГ/гексоза-ГП, активності нейтрофільної еластази на фоні зниження співвідношення зв'язаний оксипролін/вільний оксипролін, а також зміною у протеїназоінгібіторній системі з переважанням протеїназної активності.

2. Для пневмоконіозу домінуючим є фіброгенез на фоні дисбалансу в протеїназоінгібіторній системі, між ана- та катаболічними процесами у сполучній тканині легень, що підтверджується суттєвим зниженням у крові співвідношення гексоза-ГАГ/гексоза-ГП, активності альфа-1-антитрипсину, альфа-2-макроглобуліну на фоні підвищення співвідношення зв'язаний оксипролін/вільний оксипролін, активності нейтрофільної еластази, плазмового фібронектину – вагомого фактора формування пневмофіброзу.

3. Перелічені показники є досить інформативними, їх можна розглядати як прогностично значущі маркери контролю стану метаболічних процесів у сполучній тканині та використовувати у визначенні перебігу, прогнозу та лікуванні пневмоконіозу і хронічного пилового бронхіту.

Перспективи подальших досліджень: проведення комплексу робіт, спрямованих на вивчення ролі інших біомаркерів, які характеризують зміни метаболічних процесів у сполучній тканині з метою їх більш широкого використання при первинній і вторинній профілактиці розвитку пилових захворювань легень.

Список літератури

1. *Карнаух Н. Г.* Актуальные вопросы профессиональной пылевой патологии легких / Н. Г. Карнаух, Т. А. Ковальчук. – К. : Книга, 2004. – 104 с.

2. *Дуева Л. А.* Иммунологические аспекты клиники профессиональных бронхолегочных заболеваний / Л. А. Дуева // Медицина труда и пром. экология. – 2003. – № 6. – С. 5–10.

3. *Гонський Я. І.* Біохімія людини / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. – С. 655–668.

4. *Камышников В. С.* Клинико-биохимическая лабораторная диагностика / В. С. Камышников. – Минск : Интерпрессервис, 2003. – Т. 2. – С. 57–60.

5. *Шараев П. Н.* Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови / П. Н. Шараев // Лаб. дело. – 1981. – № 5. – С. 284–285.

6. *Карягина И. Ю.* Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ, α-1-антитрипсина и α-2-макроглобулина в гастроэнтерологической клинике / И. Ю. Карягина, Р. А. Зарембский, М. Д. Балябина // Лаб. дело. – 1990. – № 2. – С. 10–13.

7. *Лакин Г. Ф.* Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высш. шк., 1990. – 154 с.

8. *Аверьянов А. В.* Нейтрофильная эластаза и болезни органов дыхания / А. В. Аверьянов, А. Э. Поливанова // Пульмонология. – 2006. – № 5. – С. 74–77.

9. *Гриппи А. М.* Эластические свойства дыхательной системы / А. М. Гриппи. – М. : Бином, 1977. – С. 32.

10. Универсальный регулятор – α-2-макроглобулин / Н. А. Зорин, В. Н. Зорина, Р. М. Зорина, В. Г. Левченко // Клин. лаб. диагностика. – 2004. – № 11. – С. 18–21.

11. *Серов В. В.* Соединительная ткань / В. В. Серов, А. Б. Шехтер. – М. : Медицина, 1981. – 167 с.

В.А. Капустник, О.Г. Мельник

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА В СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПРИ ПНЕВМОКОНИОЗЕ И ХРОНИЧЕСКОМ ПЫЛЕВОМ БРОНХИТЕ

Исследовано состояние соединительной ткани у больных пневмокониозом и хроническим пылевым бронхитом путём определения в крови содержания метаболитов, непосредственно участвующих в её обменных процессах. Выявлено существенное снижение при пневмокониозе соотношения гексозаГАГ/гексоза-ГП, активности альфа-1-антитрипсина, альфа-2-макроглобулина на фоне повышения соотношения связанный оксипролин/свободный оксипролин, активности нейтрофильной эластазы, плазменного фибронектина. При хроническом пылевом бронхите установлено значительное повышение соотношения гексозаГАГ/гексозаГП, активности эластазы на фоне снижения соотношения связанный оксипролин/свободный оксипролин, а также изменение в протеиназоингибиторной системе с преобладанием протеиназной активности.

Ключевые слова: *пылевые заболевания лёгких, соединительная ткань, метаболические процессы.*

V.A. Kapustnyk, O.G. Melnik

PECULIARITIES OF CONNECTIVE TISSUE METABOLISM IN PNEUMOCONIOSIS AND CHRONIC DUST BRONCHITIS

State of connective tissue in patients with pneumoconiosis and chronic dust bronchitis was investigated using evaluation of substances which immediately take part in its metabolism. Significant decrease of hexose-GAG to hexose-GP ratio, alpha-1-antitrypsin, alpha-2-macroglobulin on the background of elevation of bound oxyproline to free oxyproline ratio, activity of neutrophil elastase, plasma fibronectin was revealed in patients with pneumoconiosis. In case of chronic dust bronchitis significant increase of hexose-GAG to hexose-GP ratio, elastase activity on the background of bound oxyproline to free oxyproline ratio decline was registered together with changes in proteinase-inhibitor system characterized by proteinase activity predominance.

Key words: *pneumoconiosis, chronic dust bronchitis, connective tissue, metabolic processes.*

Поступила 03.10.11