

ОКРЕМІ ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ АНТИПРОТЕАЗНОГО ЗАХИСТУ ПРИ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ

ОКРЕМІ ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ АНТИПРОТЕАЗНОГО ЗАХИСТУ ПРИ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ – В експерименті при гострому панкреатиті вивчено особливості змін рівня α_2 -макроглобуліну в сироватці крові стегнової, портальної і нижньої порожнистої вен та у тканинах підшлункової залози, печінки та легень. Встановлено, що одним із механізмів антиферментного захисту при гострому панкреатиті є інгібіція тканинних та сироваткових протеаз α_2 -макроглобуліном. Перебіг гострого панкреатиту характеризується прогресивним зниженням рівня α_2 -макроглобуліну в тканинах підшлункової залози, що супроводжується виснаженням резервних можливостей місцевого антипротеазного захисту, і є одним з механізмів прогресування захворювання.

ОТДЕЛЬНЫЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ АНТИПРОТЕАЗНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ – В эксперименте при остром панкреатите изучены особенности измененный уровня α_2 -макроглобулина в сыворотке крови бедренной, портальной и нижней полой вены и в тканях поджелудочной железы, печени и легких. Установлено, что одним из механизмов антиферментной защиты при остром панкреатите является ингибирование тканевых и сывороточных протеаз α_2 -макроглобулином. Течение острого панкреатита характеризуется прогрессивным снижением уровня α_2 -макроглобулина в тканях поджелудочной железы, что сопровождается истощением резервных возможностей местной антипротеазной защиты, и является одним из механизмов прогрессирования заболевания.

SOME ASPECTS OF PATHOGENETIC ANTYPROTEASE PROTECTION AT THE ACUTE PANCREATITIS – In the experiment at the acute pancreatitis there were studied the features of α_2 -macroglobulin level changes in serum femoral, portal and cava inferior vein, in the tissues of the pancreas, liver and lungs. It was found out that one of the mechanisms of antyprotease protection at the acute pancreatitis is inhibition of tissue and serum protease by α_2 -macroglobulin. The motion of acute pancreatitis is characterized by a progressive reduction of α_2 -macroglobulin in the tissues of the pancreas, accompanied by depletion of reserve capacity of local antyprotease protection and is one of the mechanisms of disease progression.

Ключові слова: гострий панкреатит, трипсин, α_2 -макроглобулін.

Ключевые слова: острый панкреатит, трипсин, α_2 -макроглобулин.

Key words: acute pancreatitis, trypsin, α_2 -macroglobulin.

ВСТУП Характер перебігу гострого панкреатиту та розвитку його ускладнень безпосередньо залежить не тільки від вираженості місцевого та системного пошкоджувального впливу активованих панкреатичних протеаз, а й від резервних можливостей тканинного та сироваткового антипротеазного захисту [2]. Одним із найважливіших ендогенних інгібіторів протеаз є α_2 -макроглобулін (α_2 -МГ), ключова фізіологічна роль якого підтверджується тим, що не описано жодного випадку відсутності гена цього протеїну [1, 3–10]. α_2 -МГ синтезується у підшлунковій залозі та печінці й належить до високомолекулярних (725 кД) глікопротеїнів, який складається з чотирьох субодиниць, що містять “ловушки” практично для всіх протеолітичних ферментів [3, 6, 8, 9]. Зокрема, α_2 -МГ є інгібітором трипсину, плазміну, пепсину, ендонуклеаз, хімотрипсину, еластази, колагенази, катепсинів G та D, протеїназ патогенних мікроорганізмів, а також здатний

приєднувати та транспортувати окремі гормони та цілий ряд цитокінів (інтерлейкіни, інтерферони, TNF- α , стимуліни, інгібітори і фактори росту) [1–9]. Окрім того, α_2 -МГ разом з α_1 -антитрипсином є регулятором розвитку та перебігу запальних реакцій організму, що визначає його роль, як одного з протизапальних чинників [3, 9].

При взаємодії α_2 -МГ з протеолітичними ферментами утворюються комплекси протеаза-антипротеаза, які руйнуються та елімінуються печінкою та макрофагами. Період напіввиведення таких комплексів не перевищує 1–2 хв [2, 3, 5, 8].

Завдяки широкій специфічності α_2 -МГ і його високій реактивності по відношенню до зв'язування протеолітичних ферментів різних класів, цей високомолекулярний глобулін вважають чинником захисту організму від надлишкового протеолізу, наростання активності якого відбувається при багатьох патологічних станах [1, 3–5, 7, 8]. Разом з тим, роль цього протеазного інгібітора у патогенезі гострого панкреатиту та особливості його змін у процесі розвитку захворювання вивчено недостатньо повно [2]. Поглиблене вивчення вказаного питання, на нашу думку, може сприяти розкриттю нових патогенетичних механізмів антиферментного захисту організму та напрацюванню адекватних методів корекції їх розладів, що обґрунтовує доцільність проведення таких досліджень.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Об'єктом експериментальних досліджень стали 63 статевозрілі сірі кролики масою від 8 до 10 кг, у яких перед ініціацією панкреатиту виконували катетеризацію стегнової, портальної та грудного відділу нижньої порожнистої вен. Експериментальний панкреатит моделювали за власною методикою, суть якої полягає у відтворенні протокової гіпертензії шляхом перев'язки вивідної біліопанкреатичної протоки з наступним введенням у тканини підшлункової залози розчину медичної жовчі з трипсином (заявка на корисну модель № u 2011 08099). Забір крові проводили до моделювання панкреатиту, а також на 1-шу, 3-ю, 5-ту та 7-му добу з моменту його ініціації. У ці ж терміни проводили забір тканин підшлункової залози, печінки та легень, після чого готували 10 % розчин гомогенату тканин на буферному розчині. Паралельно оцінювали морфологічні прояви гострого панкреатиту.

Активність α_2 -МГ у сироватці венозної крові та гомогенатах тканин визначили за методом К. Н. Веремеєнко і соавт. (1988 р.) [3], а рівень трипсину – за методом В. F. Erlander et al. (1961 р.) [10] у модифікації В. А. Шатерникова (1966 р.) [9].

При виконанні досліджень дотримувались загальноприйнятих світових та вітчизняних норм здійснення досліджень у галузі біології та медицини, а саме: положеннями Гельсінської декларації з прав людини, Ванкуверської конвенції про біомедичні дослідження (1979 р., 1994 р.) та інших законодавчих актів, що діють на території України.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При оцінці морфологічних ознак експериментального гострого панкреатиту встановлено, що на 24 го його перебігу визначали набряк підшлункової залози з наявністю окремих субкапсулярних вогнищевих крововиливів. Через 72 год з часу ініціації панкреатиту констатували наростання набряку підшлункової залози та прилеглих тканин, гіперемію місцевої очеревини, збільшення кількості вогнищевих крововиливів, появу стеатонекрозів та геморагічного перитонеального ексудату. На 5–7-му добу перебігу експериментального панкреатиту виявлялись вірогідні ознаки прогресуючого поширеного геморагічного панкреонекрозу: виражений набряк підшлункової залози з наявністю поширених вогнищ геморагічної імбібіції місцевих тканин, дифузних крововиливів і стеатонекрозів.

Показники рівня α_2 -МГ у сироватці венозної крові та гомогенатах тканин наведені у таблиці 1.

У результаті досліджень встановлено, що до моделювання панкреатиту рівень α_2 -МГ у нижній порожнистій вені складав $(2,54 \pm 0,14)$ г/л і вірогідно перевищував такі показники у крові портальної та стегнової вен – $(1,38 \pm 0,17)$ г/л та $(1,76 \pm 0,11)$ г/л відповідно ($p < 0,001$).

Через 24 год з часу ініціації панкреатиту рівень α_2 -МГ у крові стегнової вени вірогідно знижувався у 1,4 раза, у крові портальної вени – вірогідно зростав у 1,3 раза, а у нижній порожнистій вені – мав тенденцію до зниження ($p = 0,06$).

Через 72 год з часу моделювання панкреатиту, при порівнянні з 24 год, рівень α_2 -МГ у крові стегнової та портальної вен практично не змінювався, разом з тим, як у крові грудного відділу нижньої порожнистої вени – вірогідно знижувався у 1,8 раза.

З 5-ї по 7-му добу перебігу експериментального панкреатиту, при порівнянні з 3-ю добою, у крові всіх венозних русел констатовано вірогідне наростання α_2 -МГ до вихідного рівня.

При дослідженні рівня α_2 -МГ у гомогенатах тканин встановлено, що до моделювання панкреатиту величина вказаного показника у печінці становила $(7,65 \pm 0,14)$ г/л і була вірогідно вищою, ніж у легенях

та підшлунковій залозі – $(7,09 \pm 0,09)$ г/л ($p < 0,01$) та $(5,13 \pm 0,21)$ г/л ($p < 0,001$) відповідно.

Через 24 год з часу ініціації панкреатиту рівень α_2 -МГ у гомогенатах тканин легень та печінки вірогідно знижувався у 1,7 та 1,3 раза, а у підшлунковій залозі – вірогідно у 1,5 раза підвищувався.

З 3-ї по 7-му добу перебігу експериментального панкреатиту рівень α_2 -МГ у тканинах легень та печінки, порівняно з першою добою, вірогідно підвищувався у 2,1 раза та 1,3 раза відповідно, а у тканинах підшлункової залози – вірогідно у 1,4 раза знижувався.

Результати комплексного аналізу свідчать, що на 1-шу добу перебігу експериментального панкреатиту спостерігають підвищення рівня α_2 -МГ на тлі зниження активності трипсину в тканинах підшлункової залози та крові портальної вени. Такі результати, на нашу думку, вказують на те, що у відповідь на розвиток автокаталітичного ураження підшлункової залози у її тканинах запускається механізм місцевого антиферментного захисту, який полягає у синтезі та вивільненні α_2 -МГ з подальшою реалізацією його як тканинного, так і сироваткового антиферментного впливу. Разом з тим, функціонування такого місцевого антиферментного захисного механізму характеризується швидким його виснаженням, що є одним з ключових механізмів прогресування гострого панкреатиту. Доказом цього є те, що з 3-ї по 7-му добу перебігу експериментального панкреатиту спостерігають прогресуюче наростання активності трипсину в тканинах підшлункової залози та крові портальної вени на тлі паралельного прогресивного зниження α_2 -МГ (табл. 2).

Паралельне підвищення активності трипсину та зниження рівня α_2 -МГ у периферичному венозному руслі на тлі зниження α_2 -МГ у печінці та легенях впродовж 1-ї доби перебігу експериментального панкреатиту, з нашого погляду, вказують на те, що виникнення гіпертрипсинемії призводить до ініціації захисного механізму системного антиферментного захисту. Вказаний механізм полягає у вивільненні α_2 -МГ з тканин печінки з наступною реалізацією його системного антипротеазного впливу. Активне “споживання” вказаного протеазного інгібітора призво-

Таблиця 1. Рівень α_2 -макроглобуліну сироватки венозної крові та гомогенату тканин у різні терміни перебігу гострого панкреатиту в експерименті (г/л)

Час з моменту моделювання панкреатиту	α_2 -макроглобулін крові			α_2 -макроглобулін гомогенату тканин		
	стегнова вена	портальна вена	нижня порожниста вена	легені	печінка	підшлункова залоза
	a	b	c	a	b	c
Контроль, n=63	$1,76 \pm 0,11$	$1,38 \pm 0,17$	$2,54 \pm 0,14$ $p_{c-a,b} < 0,001$	$7,09 \pm 0,09$	$7,65 \pm 0,14$ $p_{b-a} < 0,01$	$5,13 \pm 0,21$ $p_{c-a,b} < 0,001$
Панкреатит 24 год, n=63	$1,30 \pm 0,20$ $p_{2-1} < 0,05$	$1,85 \pm 0,12$ $p_{b-a} < 0,05$ $p_{2-1} < 0,05$	$2,03 \pm 0,23$ $p_{c-a} < 0,01$	$4,29 \pm 0,31$ $p_{2-1} < 0,001$	$6,04 \pm 0,24$ $p_{b-a} < 0,001$ $p_{2-1} < 0,001$	$7,44 \pm 0,46$ $p_{c-a} < 0,001$ $p_{c-b} < 0,01$ $p_{2-1} < 0,001$
Панкреатит 72 год, n=57	$1,20 \pm 0,17$ $p_{3-1} < 0,01$	$1,69 \pm 0,10$ $p_{b-a} < 0,05$	$1,13 \pm 0,31$ $p_{3-1} < 0,001$ $p_{3-2} < 0,05$	$3,45 \pm 0,28$ $p_{3-1} < 0,001$	$6,74 \pm 0,19$ $p_{b-a} < 0,001$ $p_{3-1} < 0,001$ $p_{3-2} < 0,05$	$6,88 \pm 0,33$ $p_{c-a} < 0,001$ $p_{3-1} < 0,001$
Панкреатит 5 дб, n=44	$1,66 \pm 0,15$ $p_{4-3} < 0,05$	$2,20 \pm 0,27$ $p_{b-c} < 0,05$ $p_{4-1} < 0,01$	$1,44 \pm 0,25$ $p_{4-1} < 0,001$	$8,17 \pm 0,28$ $p_{4-1,2,3} < 0,001$	$7,69 \pm 0,32$ $p_{4-2} < 0,001$ $p_{4-3} < 0,01$	$5,20 \pm 0,41$ $p_{c-a,b} < 0,001$ $p_{4-2} < 0,001$ $p_{4-3} < 0,01$
Панкреатит 7 дб, n=39	$1,54 \pm 0,19$	$1,48 \pm 0,16$ $p_{5-4} < 0,05$	$2,25 \pm 0,21$ $p_{c-a,b} < 0,001$ $p_{5-3} < 0,01$ $p_{5-4} < 0,05$	$8,91 \pm 0,36$ $p_{5-1,2,3} < 0,001$	$8,07 \pm 0,44$ $p_{5-2} < 0,001$ $p_{5-3} < 0,01$	$5,41 \pm 0,51$ $p_{c-a,b} < 0,001$ $p_{5-2} < 0,01$ $p_{5-3} < 0,05$

Таблиця 2. Активність трипсину сироватки венозної крові та гомогенату тканин у різні терміни перебігу гострого панкреатиту в експерименті (Мод)

Час з моменту моделювання панкреатиту	Трипсин крові			Трипсин гомогенату тканин		
	стегнова вена	портальна вена	нижня порожниста вена	легені	печінка	підшлункова залоза
	a	b	c	a	b	c
Контроль, n=63	29,61±0,99 p _{a-b} <0,05	25,86±1,12	40,53±1,71 p _{c-a,b} <0,001	40,65±0,56 p _{a-b,c} <0,001	44,61±0,89	46,39±1,01
Панкреатит 24 год, n=63	39,80±3,09 p _{a-b,c} <0,001 p ₁₋₂ <0,01	15,33±1,88 p _{b-c} <0,001 p ₁₋₂ <0,001	26,13±2,12 p ₁₋₂ <0,001	49,33±0,92 p _{a-b,c} <0,001 p ₁₋₂ <0,001	42,69±0,74	42,33±1,34 p ₁₋₂ <0,05
Панкреатит 72 год, n=57	28,40±1,59 p ₂₋₃ <0,01	26,40±2,15 p ₂₋₃ <0,001	42,13±2,51 p _{c-a,b} <0,001 p ₂₋₃ <0,001	48,01±1,19 p ₁₋₃ <0,001	43,32±2,07	48,12±2,11 p ₂₋₃ <0,05
Панкреатит 5 діб, n=44	27,86±2,01 p _{a-b} <0,05 p ₂₋₄ <0,01	34,33±1,94 p _{1,2-4} <0,001 p ₃₋₄ <0,01	31,86±3,24 p _{1,3-4} <0,05	42,09±1,98 p _{a-b} <0,01 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,01	50,06±1,78 p ₁₋₄ <0,01 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,05	54,07±2,02 p _{c-a} <0,001 p _{1,2-4} <0,001 p ₃₋₄ <0,05
Панкреатит 7 діб, n=39	24,80±1,87 p _{a-b} <0,05 p ₁₋₅ <0,05 p ₂₋₅ <0,001	31,09±2,17 p ₁₋₅ <0,05 p ₂₋₅ <0,001	32,66±1,63 p _{c-a} <0,001 p _{1,3-5} <0,01 p ₂₋₅ <0,05	45,33±1,44 p _{a-b} <0,01 p ₁₋₅ <0,001 p ₂₋₅ <0,05	50,62±1,10 p _{1,2-5} <0,001 p ₃₋₅ <0,01	53,64±1,39 p _{c-a} <0,001 p _{1,2-5} <0,001

Примітка. Наведено тільки статистично вірогідні відмінності.

дить до виникнення гіпомакроглобулінемії, що зумовлює активізацію синтезу α_2 -МГ у тканинах печінки та відновлення його рівня у периферичному та центральному венозному руслі. Така трансформація наведеного механізму системного антиферментного захисту на тлі функціонування інших антипротеазних чинників призводить до зниження вираженості ферментемії і, як наслідок, запобігає патологічній системній дії активованих панкреатичних ензимів. Доказом цього, на нашу думку, є те, що з 3-ї по 7-му добу перебігу експериментального панкреатиту спостерігають зниження активності трипсину на тлі прогресуючого наростання рівня α_2 -МГ у крові нижньої порожнистої і стегнової вен.

Таким чином, аналізуючи результати досліджень, можна зробити висновок, що перебіг гострого панкреатиту характеризується ініціацією місцевих та системних механізмів антиферментного захисту, одним з яких є інгібіція тканинних та сироваткових протеаз α_2 -макроглобуліном. Первинна неспроможність та швидке виснаження вказаних захисних механізмів обґрунтовує доцільність напрацювання нових методів лікування гострого панкреатиту, спрямованих на попередження та нейтралізацію патологічного місцевого і системного впливу активованих панкреатичних протеаз.

ВИСНОВКИ 1. Розвиток автокаталітичного ураження підшлункової залози та системна генералізація її активованих ферментів призводить до ініціації системних та місцевих механізмів антиферментного захисту, одним з яких є інгібіція тканинних та сироваткових протеаз α_2 -макроглобуліном.

2. Одним з діагностично-прогностичних маркерів гострого панкреатиту є зниженням рівня α_2 -макроглобуліну в периферичному венозному руслі.

3. З 1-ї по 7-му добу перебігу гострого експериментального панкреатиту характеризується прогресивним зниженням рівня α_2 -макроглобуліну в тканинах підшлункової залози, що супроводжується виснаженням резервних можливостей місцевого антипротеазного захисту і є одним з механізмів прогресування інтрапанкреатичного автокаталітичного ураження.

Перспективи подальших досліджень Перспективним є подальше вивчення місцевих та системних чинників антипротеазного захисту при гострому панкреатиті, що може скласти основу для напрацювання нових ефективних методів його діагностики та лікування.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Альфа α_2 -макроглобулін, его комплексы с IgG и некоторые факторы гуморального иммунитета при ревматоидном артрите / В. Н. Зорина, Н. А. Трофименко, С. В. Архипова [и соавт.] // Научно практическая ревматология. – 2006. – № 1. – С. 22–27.
2. Бугаенко О. А. Острый панкреатит: биохимические маркеры и патогенетические подходы к лечению с использованием ингибиторов протеиназ / О. А. Бугаенко, М. И. Федосов, И. И. Фомочкина [и соавт.] // Клін. хірургія. – 2009. – № 10. – С. 47–53.
3. Веремеенко К. Н. Протеолиз в норме и при патологии / К. Н. Веремеенко, О. П. Голобородько, А. И. Кизим // К.: Здоров'я, 1988. – 200 с.
4. Камышников В. С. Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили / В. С. Камышников // М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 320 с.
5. Макеева Н. И. Роль системы протеиназа-ингибитор протеиназ у формировании хронического захворювання нирок різного походження у дітей / Н. И. Макеева // Современная педиатрия. – 2009. – Т. 27, № 5. – С. 165–168.
6. Протеолитические ферменты и апоптоз / К. Н. Веремеенко, В. Е. Досенко, В. С. Нагибин [и соавт.] // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75, № 6. – С. 10–24.
7. A DNA polymorphism at the α_2 -macroglobulin gene is associated with the severity of rheumatoid arthritis / I. Zapico, E. Coto, A. Rodriguez [et al.] // J. Rheumatol. – 2000. – Vol. 27, N 10. – P. 2308–2311.
8. Alpha 2 macroglobulin, the main serum antiprotease, binds beta 2 microglobulin, the light chain of the class I major histocompatibility complex, which is involved in human disease / A. Goulin Charnet, D. Laune, C. Granier [et al.] // J. Clin. Sci. – 2000. – Vol. 98. – P. 427–433.
9. Birkenmeier G. Targetting the proteinase inhibitor and immune modulatory function of human alpha 2 macroglobulin / G. Birkenmeier // Mod. Asp. Immunobiol. – 2001. – N 2. – P. 32–36.
10. Erlanger B. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin / B. Erlanger, N. Kokowsky, W. Cohen // Arch. Biochem. Biophys. – 1961. – Vol. 95. – P. 271–278.

Отримано 19.12.11