

Г.С. Сенаторова¹, Л.М. Черненко¹, Л.М. Самохіна²

ЕКСПРЕСІЯ ПРОТЕІНАЗ ВАЗОКОНСТРИКТОРНОЇ ДІЇ У ДІТЕЙ З РІЗНИМИ ФОРМАМИ БРОНХОЛЕГЕНЕВОЇ ДИСПЛАЗІЇ

¹Харківський національний медичний університет,

КЗОЗ «Харківська обласна дитяча клінічна лікарня»,

²Державна установа «Інститут терапії ім. Л.Т.Малої АМН України», м. Харків

Ключові слова: бронхолегенева дисплазія, протеїнази вазоконстрикторної дії, кардіоваскулярні ускладнення, діти.

Ключевые слова: бронхолегочная дисплазия, протеиназы вазоконстрикторного действия, кардиоваскулярные осложнения, дети.

Key words: bronchopulmonary dysplasia, proteinase of vasoconstrictive action, cardiovascular complications, children.

Наведено результати аналізу рівнів протеїназ вазоконстрикторної дії у дітей з різними формами бронхолегеневої дисплазії. Показано, що система протеїназа-інгібітор протеїназ відіграє істотну роль у виникненні кардіоваскулярних ускладнень при бронхолегеневій дисплазії.

Приведені результати аналізу рівней протеїназ вазоконстрикторного действия у детей с разными формами бронхолегочной дисплазии. Показано, что система протеиназа-ингибитор протеиназ играет существенную роль в возникновении кардиоваскулярных осложнений при бронхолегочной дисплазии.

The paper presents the analysis results of proteinases activities of vasoconstrictive actions in children with bronchopulmonary dysplasia in different forms. It is shown that the system proteinase-proteinase inhibitor plays a significant role in causing cardiovascular complications of bronchopulmonary dysplasia.

З розвитком технологій виходжування й респіраторної підтримки недоношених новонароджених одночасно зі зниженням смертності відзначають зростання частоти розвитку бронхолегеневої дисплазії (БЛД) у дітей [1–3].

Однією з найважливіших умов, що визначають своєрідність патологічних процесів у легенях новонароджених, є те, що вони виникають в один з найбільш критичних періодів життя дитини, коли відбувається перебудова функціональних систем, насамперед, дихання та кровообігу, поступове їх дозрівання [4]. Протягом багатьох років бронхолегеневу дисплазію вважали більш притаманною періоду новонародженості, зокрема недоношеним дітям. У подальшому показано, що значення БЛД виходить за межі неонатології [1,5].

Завдяки тісному морфофункціональному взаємозв'язку обструктивні чи рестриктивні зміни при хронічних захворюваннях дихальної системи призводять до ранніх порушень легенево-серцевих відносин, результатом чого є гіпоксична легенева вазоконстрикція, механічне звуження судин і обструкція судинного легеневого ложа, що, в свою чергу, призводить до легеневої гіпертензії та формування хронічної серцевої недостатності [6]. Це має вирішальне значення для прогнозу захворювання як у дітей, так і у дорослих.

Нині однією з найсуттєвіших проблем пульмонології, в тому числі дитячої, є пошук шляхів, що дозволять загальмувати прогресування хронічного захворювання легень. Тому продовжується пошук чутливіших, тонших маркерів подальшого ураження клітин і поступового зниження функції легень. З цього приводу останніми роками зростає цікавість дослідників до протеаз, що можна пояснити високою клініко-діагностичною інформативністю визначення

їхнього рівня при багатьох патологічних процесах [7,8].

Відомо, що утворення ангіотензину II проходить двома шляхами: класичним – за участі реніну й ангіотензинперетворювального ферменту, а також альтернативним тканинним – за участі нових ангіотензину II-утворювальних протеаз (хімази, тоніну, тканинного активатора плазміногену, катепсину G). Саме хімазозалежний (альтернативний) шлях утворення ангіотензину II, виявлений у судинах, серці й нирках, привертає все більшу увагу дослідників, які зазначають участь цих протеїназ у формуванні кардіоваскулярних ускладнень [9].

МЕТА РОБОТИ

Визначити активність протеїназ вазоконстрикторної дії та їх участь у формуванні кардіоваскулярних ускладнень у дітей з різними формами бронхолегеневої дисплазії.

ПАЦІЄНТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на кафедрі педіатрії №1 і неонатології ХНМУ (зав. кафедри – д. мед. н., професор Г.С. Сенаторова) на базі Обласного центру діагностики та лікування бронхолегеневої дисплазії у дітей КЗОЗ «Обласна клінічна дитяча лікарня м. Харкова» (головний лікар – к. мед. н., доцент Г.Р. Муратов; керівник центру – к. мед. н. О.Л. Логвінова).

Обстежено 60 дітей віком від 1 місяця до 3 років, серед яких у 29 пацієнтів діагностовано класичну форму БЛД (1 група), у 16 – нову форму БЛД (2 група), у 15 – БЛД доношених (3 група). Діагноз бронхолегеневої дисплазії встановлено згідно до міжнародної класифікації хвороб 10-го перегляду (шифр P27.0). Критерії тяжкості визначали за класифікацією клінічних форм бронхолегеневих захворювань дітей Російського респіраторного суспільства (2009 р.) [10].



Активність протеїназ вазоконстрикторної дії в сироватці крові обстежених дітей

Показник	1 група (n=29)	2 група (n=16)	3 група (n=15)	Група контролю (n=12)
	Me (Lq; Uq)	Me (Lq; Uq)	Me (Lq; Uq)	Me (Lq; Uq)
НТПП, мг/л/год	0,095 (0,060; 0,190)	0,090 (0,071; 0,155)	0,070 (0,055; 0,160)	0,110 (0,090; 0,145)
Тонін, Е мкмоль субстр/хв	0,594 (0,078; 2,673)	2,231 (0,259; 3,426)	0,344 (0,000; 2,409) [^]	2,012 (1,175; 3,107)
Хімаза, Ех10 ⁻³ нмоль субстр/хв	3,104 (0,753; 4,264) [^]	2,184 (1,384; 2,902)	0,000 (0,000; 2,001)	0,851 (0,047; 2,869)
α-2-МГ, г/л год	0,25 (0,22; 0,43) ^{^^}	0,30 (0,23; 0,49) ^{^^}	0,28 (0,20; 0,30)	0,20 (0,17; 0,29)
ТІА α-1-ІП, г/л год	7,75 (7,30; 7,90)	7,65 (7,32; 7,71)	7,80 (7,30; 7,89)	7,67 (7,53; 7,83)

Примітка: [^] – при порівнянні з контролем $p < 0,05$; ^{^^} – при порівнянні з контролем $p < 0,01$.

Досліджували активність нетрипсиноподібних протеїназ (НТПП), хімази, тоніну, а також їх інгібіторів – α-2-макроглобуліну (α-2-МГ) та трипсинінгібіторну активність α-1-інгібітора протеїназ (ТІА α-1-ІП) з використанням високочутливого (10^{-9} – 10^{-10} г) ферментативного методу, розробленого у ДУ «Інститут терапії імені Л.Т.Малої АМН України» (Самохіна Л.М., 1997, 2001, 2002, 2004) [11]. Допплероехокардіографічне обстеження з обчисленням даних трансмітрального потоку проводили на ультразвуковому апараті «AU 3 Partner» фірми «Esaote Biomedica» (Італія). Діастолічну функцію лівого шлуночка вивчали за методикою L.K. Hattle, B. Angelsen (1985) в імпульсному доплерівському режимі з картуванням трансмітрального потоку з верхівкового доступу 4-камерного серця. Роботу виконано згідно з етичними принципами медичного дослідження, що проводяться на людях, прийнятими Гельсінською декларацією.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою статистичного пакету програми Statistica 7.0. Для вибірок з розподілом, що не відповідає закону Гауса, визначали медіану (Me) й інтерквартильний розмах (Lq – нижній квартиль; Uq – верхній квартиль). Для порівняння 2 вибірок використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні (MW). Різницю параметрів, що порівнювали за 2 точками, вважали статистично значущою при $p < 0,05$. При зіставленні показників, що характеризувались порівнянням більше ніж 2 точок, використовували дисперсійний аналіз Краскела-Уолліса, а відмінності вважали вірогідними з урахуванням поправки Бонферроні (при $p^{\wedge} = p/k$, де k – кількість парних порівнянь).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Під час аналізу змін вазоконстрикторних протеїназ у дітей 1 групи відзначили, що активність НТПП і тоніну суттєво не відрізнялась від показників у здорових дітей (усі $p > 0,05$), однак активність хімази вірогідно вища порівняно з групою контролю ($p < 0,05$) (табл. 1). Вірогідне підвищення рівня α-2-МГ ($p < 0,01$) на фоні відсутності змін активності ТІА α-1-ІП ($p > 0,05$) можна розглядати як захист від зростання саме

активності хімази, оскільки цей інгібітор відіграє важливішу роль у пригніченні хімази, ніж α-1-ІП [7]. Наявність вірогідних позитивних кореляційних зв'язків між рівнем α-2-МГ і активністю тоніну ($r = +0,43$, $p = 0,017$) та хімази ($r = +0,78$, $p = 0,0000$) на фоні відсутності підвищення рівня тоніну може свідчити про достатню участь цього інгібітора в пригніченні зазначеного ферменту вазоконстрикторної дії. Підвищення активності хімази в сироватці крові дітей з класичною формою БЛД ілюструє активацію тканинного шляху утворення ангіотензину II, що може сприяти розвитку вазоконстрикторних механізмів формування й прогресування кардіоваскулярних ускладнень [7].

У сироватці крові дітей 2 групи відзначали вірогідне зростання лише рівня α-2-МГ ($p < 0,01$). Підвищення активності α-2-МГ, відсутність збільшення ТІА α-1-ІП в сироватці крові у дітей з новою формою БЛД, наявність вірогідного позитивного кореляційного зв'язку між рівнями α-2-МГ і НТПП ($r = +0,48$, $p = 0,05$) та хімази ($r = +0,79$, $p = 0,0002$) в сироватці крові не виключають участі інгібіторів у пригніченні надлишкової активності протеїназ.

У дітей 3 групи зафіксовано вірогідне зменшення рівня тоніну ($p < 0,05$) – протеїнази вазоконстрикторної дії, що бере участь в альтернативному шляху утворення ангіотензину II безпосередньо з ангіотензину без істотних змін рівня інгібіторів порівняно з контролем (усі $p > 0,05$). Також визначено вірогідний позитивний кореляційний зв'язок між активністю хімази та α-2-МГ ($r = +0,50$; $p = 0,05$), що на фоні відсутності підвищення рівня протеїназ вазоконстрикторної дії може свідчити про достатню участь цього інгібітора в пригніченні ферментів вазоконстрикторної дії. Крім того, виявлено вірогідний негативний кореляційний зв'язок між активністю α-2-МГ та ТІА α-1-ІП ($r = -0,53$; $p = 0,05$). Такий характер змін інгібіторів протеїназ сприяє пригніченню протеолізу, особливо за участю трипсиноподібних ферментів. Тобто, у дітей з БЛД доношених α-2-МГ пригнічує протеоліз без необхідності залучення α-1-ІП, що вказує на природну захищеність організму від активації протеолізу. Відсутність підвищення активності цього інгібітора відображає більшу можливість участі НТПП у



формуванні вазоконстрикторних ефектів. Підтвердження цього є вірогідний сильний позитивний кореляційний зв'язок між рівнем НТПП та активністю хімази ($r=+0,73$; $p=0,001$), що може демонструвати витрачання зазначених протеїназ на утворення ангіотензину II, вичерпання можливостей їх синтезу та/або вивільнення і розвиток тканинних вазоконстрикторних ефектів за умови тривалого формування патологічного процесу.

Під час множинного порівняння статистичних характеристик активності протеїназ та їх інгібіторів визначено, що критерій Краскла-Уолліса високо значущий за такими параметрами, як хімаза ($N=9,09$; $p=0,0280$) та α -2-МГ ($N=8,61$; $p=0,0349$). Це дає право стверджувати, що статистичні характеристики відповідних показників різних груп вірогідно різняться, а рівень активності хімази і α -2-МГ у сироватці крові залежить від належності пацієнтів до тієї чи іншої групи.

Для визначення участі протеїназ вазоконстрикторної дії у формуванні кардіоваскулярних подій здійснено аналіз взаємозв'язків між рівнем зазначених протеїназ і частотою патології серцево-судинної системи.

Згідно з обчисленими значеннями, існує взаємозв'язок між підвищеним рівнем хімази та наявністю діастолічної дисфункції лівого шлуночка ($\chi^2=3,89$; $p=0,049$) у дітей I групи.

Встановлено також, що ця патологія формується у 3,8 рази частіше, ніж у дітей без підвищення рівня цього вазоконстриктора. Отже, можна стверджувати, що відносна кількість хворих з наявністю діастолічної дисфункції лівого шлуночка зростає під час збільшення рівня хімази в сироватці крові дітей з класичною формою БЛД. Також з'ясовано зв'язок між підвищеним рівнем тоніну та наявністю тривалої тахікардії ($\chi^2=4,9$; $p=0,02$); у дітей з класичною формою БЛД при підвищеному рівні тоніну тахікардію відзначають у 6,9 разів частіше, ніж у дітей без підвищення рівня зазначеної протеїнази.

ВИСНОВКИ

1. У дітей з бронхолегеневою дисплазією встановлено дисбаланс системи протеїназа-інгібітор протеїназ, що на перших етапах, виконуючи «програму природного захисту від надмірної активності протеолізу», створює структурні (гістологічні) умови для подальшого поглиблення патологічного процесу.

2. У дітей з класичною формою бронхолегеневої дисплазії встановлено зв'язок між підвищеним рівнем протеїназ

вазоконстрикторної дії та наявністю діастолічної дисфункції лівого шлуночка і тривалої тахікардії, що відображають розвиток вазоконстрикторних механізмів формування й прогресування кардіоваскулярних ускладнень.

Перспективним є дослідження системи протеїназа-інгібітор протеїназ у дітей з бронхолегеневою дисплазією з метою запобігання виникненню кардіоваскулярних ускладнень, що необхідно враховувати під час клінічного менеджменту за цим контингентом дітей.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Овсянников Д.Ю. Система оказания медицинской помощи детям, страдающим бронхолегочной дисплазией: Руководство для практикующих врачей / Овсянников Д.Ю., Кузьменко Л.Г. – М., 2010. – С. 151.
2. Охотникова Е.Н. Бронхолегочная дисплазия как предиктор формирования хронической патологии органов дыхания у детей / Охотникова Е.Н., Шунько Е.Е. // Здоров'я України. – 2009. – №1 (23). – С. 46–49.
3. Сенаторова А.С. Бронхолегочная дисплазия у детей. Современный взгляд на проблему диагностики и лечения / Сенаторова А.С., Логвинова О.Л., Муратов Г.Р., Золотухина Г.А., Черненко Л.Н. // Современная педиатрия. – 2010. – №1 (29). – С. 105–112.
4. Козарезов С.Н. Современные представления о бронхолегочной дисплазии у детей (часть 2) / Козарезов С.Н. // Медицинский журнал. – 2007. – №4.
5. Шишко Г.А. Современные подходы к ранней диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии: Учебно-методическое пособие для врачей / Шишко Г.А., Устинович Ю.А. – Минск, 2006. – 31 с.
6. Чучалин А.Г. Хронические obstructивные болезни легких / Чучалин А.Г. – СПб.: Невский диалект, 1998. – 509 с.
7. Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и при патологии / Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. – Киев: Здоровье, 1988. – 198 с.
8. Веремеенко К.Н. Протеолитические ферменты и апоптоз / Веремеенко К.Н., Досенко В.Е., Нагибин В.С. // Украинский биохимический журнал. – 2003. – Т. 75, №6. – С. 10–24.
9. Макеева Н.И. Система «протеїназа-інгібіторпротеїназ» у дітей з початковою стадією хронічного захворювання нирок / Н.И. Макеева, Г.С. Сенаторова, Л.М. Самохіна // Здоровье ребенка. – 2009. – №3 (18). – С. 51–54.
10. Генне Н.А. Рабочая классификация основных клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей / Генне Н.А., Розинова Н.Н., Волков И.К., Мизерницкий Ю.Л. // Московский НИИ педиатрии и детской хирургии. – Практическая медицина. – 2009.
11. Пат. России № 1655991 от 20.01.94 г. Способ определения активности протеиназ или их ингибиторов в биологических жидкостях / Самохіна Л.М., Дубинин А.А. // МПК G 01 № 33/48, С 12 Q 1/38; Заявка № 4654144 от 22.02.89 г.

Відомості про авторів:

Сенаторова Г.С., д. мед. н., професор, зав. каф. педіатрії №1 і неонатології ХНМУ.

Черненко Л.М., магістр медицини з педіатрії, здобувач, асистент каф. педіатрії №1 і неонатології ХНМУ.

Самохіна Л.М., провідний науковий співробітник лабораторії біохімічних і імуноферментних методів дослідження, к. біол. н., ст. науковий співробітник ДУ «Інститут терапії імені Л.Т. Малої АМН України».

Адреса для листування:

Черненко Лариса Миколаївна. 61052, м. Харків, вул. Маршала Конєва, 9, кв. 76.

E-mail: chernenko.larysa@gmail.com

Поступила в редакцію 23.03.2012 г.