

И.И. Фомочкина, А.В. Кубышкин

## Патогенетическое значение протеиназ-ингибиторной системы в развитии локальной и системной патологии

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского

**Ключевые слова:** шок, воспаление, синдром системной воспалительной реакции, протеиназы, классификация.

Представлено клинико-экспериментальное исследование по изучению роли компонентов неспецифической протеиназ-ингибиторной системы в развитии воспаления и синдрома ишемии-реперфузии на организменном и органном уровне. Выявлены общие закономерности изменений в уровне протеиназ и их ингибиторов. На основании полученных результатов обосновано место синдрома системной воспалительной реакции в патогенезе экстремальных клинических состояний. Предложена классификация шоков на основе интеграции концепций шока и синдрома системной воспалительной реакции, в рамках которой рекомендуется выделять шоки с первичным и вторичным формированием синдрома системной воспалительной реакции.

### Патогенетичне значення протеїназ-інгібіторної системи у розвитку локальної і системної патології

І.І. Фомочкіна, А.В. Кубишкін

Наведено клініко-експериментальне дослідження з вивчення ролі компонентів неспецифічної протеїназ-інгібіторної системи у розвитку запалення і синдрому ішемії-реперфузії на рівні організму й органному рівні. Виявлено загальні закономірності змін рівня протеїназ та їх інгібіторів. На підставі отриманих результатів обґрунтовано місце синдрому системної запальної реакції в патогенезі екстремальних клінічних станів. Запропоновано класифікацію шоків на основі інтеграції концепцій шоку і синдрому системної запальної реакції, в рамках якої рекомендується виділяти шоки з первинним і вторинним формуванням синдрому системної запальної реакції.

**Ключові слова:** шок, запалення, синдром системної запальної реакції, протеїнази, класифікація.**Патологія.** – 2012. – №2 (25). – С. 50–54

### Pathogenetic role of proteinase-inhibitor system in the development of local and systemic pathology

I.I. Fomochkina, A.V. Kubyshkin

The experimental and clinical research of nonspecific proteinase-inhibitor system components role in pathogenesis of inflammation and ischemia-reperfusion syndrome on the level of organism and on organ level was conducted. Common mechanisms of changes of proteinases and their inhibitors levels are revealed. On the basis of these results the place of systemic inflammatory response syndrome in pathogenesis of urgent clinical states is grounded. Classification of shocks on the basis of integration of concepts of shock and systemic inflammatory response syndrome is proposed. According to this classification it is suggested to divide shocks into 2 groups with primary and secondary systemic inflammatory response syndrome formation.

**Key words:** shock, inflammation, systemic inflammatory response syndrome, proteinases, classification.**Pathologia.** 2012; №2 (25): 50–54

Актуальность проблемы критических состояний и шока не вызывает сомнений в связи со значительной летальностью, высоким риском развития осложнений: синдрома полиорганной недостаточности (СПОН), диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), а также незавершенностью разработки теории о роли синдрома системной воспалительной реакции (ССВР) в патогенезе шока [1,2]. В настоящее время понятие «синдром системной воспалительной реакции» остро нуждается в конкретизации. В качестве одной из реальных возможностей для этого является рассмотрение ССВР с позиции типового патологического процесса, с характеристикой основных феноменов этого процесса и определением уровней системной воспалительной реакции. Такой подход позволит определить комплекс критериев мониторинга и прогноза различных критических ситуаций.

В настоящее время в качестве основной причины тяжести состояния больных с шоками различной этиологии называют развитие микроциркуляторных расстройств,

приводящих к циркуляторной гипоксии и, как следствие, другим изменениям гомеостаза. Столь выраженные микроциркуляторные расстройства развиваются как результат избыточного системного действия медиаторов воспаления (эйкозаноидов, цитокинов, биогенных аминов, продуктов свободнорадикального окисления, тканевого распада и различных эндогенных и микробных токсинов) [3].

Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о явной схожести проявлений многих критических состояний, вне зависимости от причины, что позволяет думать о единстве закономерностей их клинической реализации и предположить ключевое значение синдрома системной воспалительной реакции при большинстве экстремальных состояний [4–7]. Однако анализ исследований по проблеме позволяет заключить, что ССВР для большинства клиницистов и теоретиков остается умозрительным понятием, применимым в основном к сепсису [8,9]. Таким образом, подход к расшифровке генеза критических состояний различной

этиологии требует более глубокого изучения проблемы, систематизации всех многочисленных феноменов синдрома системной воспалительной реакции.

Основные исследования по изучению молекулярных механизмов развития ССВР направлены на изучение роли цитокинов [2]. Но большинство цитокинов условно можно отнести к группе информационных (регуляторных) факторов. При их определении для характеристики формирования ССВР отмечается чрезмерный рост системных концентраций, но практически невозможно оценить диагностическую ценность этих показателей [2].

### Цель работы

Оценить возможность использования показателей неспецифической протеиназ-ингибиторной системы в качестве маркеров оценки развития критических состояний. Неспецифические клеточные протеиназы можно отнести к группе классических эффекторных факторов, отражающих степень деструкции тканей при различных патологических процессах, в связи с чем их определение может дать представление об общих закономерностях развития патологии.

Методология проведенного исследования построена на сопоставлении и систематизации данных о роли компонентов протеиназ-ингибиторной системы в развитии воспаления и шоковых состояний. С этих же позиций попытались систематизировать данные о возможном участии ССВР в патогенезе шока и обосновать подходы к оценке баланса про- и противовоспалительных факторов при критических состояниях.

### Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 174 белых крысах-самцах линии Wistar массой 180–200 г. Животных содержали в стандартных идентичных условиях, что необходимо для создания структурной группы. Исследования проводили в соответствии с требованиями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в исследовательских и других научных целях» (Strasburg, 18.03.1986) и постановления I национального конгресса по биоэтике (Киев, 2001) [10].

Экспериментальное изучение патогенеза ССВР проводили на модели реперфузионного синдрома (РС), который вызывали наложением резиновых жгутов на обе задние конечности животных на уровне паховой складки сроком на 6 часов под легким эфирным наркозом. Взятие биологического материала осуществляли через 6, 12 и 24 часа после ревазуляризации конечностей. Для изучения локального «классического» воспаления использовали обтурационную модель воспаления легких с введением стерильной капроновой нити в трахею животных. Исследования проводили в период развития острого (до 2 недель) и хронического (до 6 месяцев) воспаления легких с исследованием сыворотки крови и бронхоальвеолярного секрета (БАС). Патологические изменения внутренних органов контролировали морфологическими исследованиями. Умерщвление крыс осуществляли путем декапитации наркотизированных животных. В качестве материала для исследования ис-

пользовали сыворотку крови и БАС, который получали путем 6–8 кратного промывания легких через трахею 10 мл физиологического раствора.

Наряду с экспериментальными проведены клинические исследования у больных с экстренной абдоминальной патологией и воспалительными заболеваниями легких. Для этого осуществляли анализ БАС 63 детей с острой и хронической патологией легких воспалительного характера (с острой пневмонией – 24 детей, с рецидивирующим бронхитом – 9, с хронической воспалительными заболеваниями – 30) в период обострения заболевания и с учетом характера эндобронхита (катаральный, катарально-гнойный и гнойный). В качестве условного контроля служила группа из 10 детей без видимой патологии бронхов при проведении диагностической бронхоскопии. Клинический раздел также включал исследования БАС у 26 больных с экстренной абдоминальной патологией (10 человек с перитонитом и 16 без него).

В качестве параметров неспецифической протеиназ-ингибиторной системы исследовали трипсиноподобную, эластазоподобную, антитриптическую активность (ТПА, ЭПА, АТА) и кислотостабильные ингибиторы (КСИ) [11]. Белок определяли методом Лоури.

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием методов вариационной статистики с вычислением средних величин (М) и оценкой вероятности расхождений (m), достоверными считали показатели при  $P < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Изучение и сопоставление состояния протеиназ-ингибиторной системы при развитии воспаления легких и шоковых состояний позволило выявить некоторые особенности и закономерности. Моделирование в эксперименте воспаления легких сопровождалось увеличением уровня активности протеиназ, наряду с угнетением ингибиторного потенциала в легких при длительном течении воспаления. По-видимому, наблюдалось снижение контроля со стороны антипротеиназной защиты бронхоальвеолярного секрета.

В результате анализа клинических данных выявлена зависимость изменений в протеиназ-ингибиторной системе бронхоальвеолярного секрета от характера эндобронхита и длительности течения заболевания. Так, острое воспаление сопровождается активацией протеолиза наряду с усиленным синтезом и секрецией ингибиторов протеолитических ферментов. В дальнейшем при хронизации процесса ингибиторный потенциал истощается, и активация протеиназ начинает носить неконтролируемый характер. Следовательно, клинические результаты соответствуют представленным экспериментальным данным, свидетельствующим об угнетении антипротеиназного потенциала бронхоальвеолярного секрета при переходе из острой стадии воспаления в хроническую.

Моделирование экспериментального синдрома ишемии-реперфузии приводило к активации протеиназ

и снижению ингибиторов в крови и бронхоальвеолярном секрете при прогрессировании клинической картины патологии. Эксперименты по изучению выживаемости при моделировании РС показали, что летальность возрастала на фоне выраженного снижения активности ингибиторов. Присоединение патологии легких при острой абдоминальной патологии в клинике зависит от степени распространенности патологического процесса и наличия низкого уровня ингибиторов в легких.

Таким образом, анализ результатов подтверждает близость механизмов участия системы протеиназ и их ингибиторов в формировании локальных и системных патологических процессов. При локальном воспалении и реперфузионном синдроме происходят схожие изменения на местном и системном уровнях, которые проявляются чрезмерной активацией протеиназ на фоне угнетения ингибиторных возможностей. При местном воспалении эти изменения происходят локально, а при системной экстремальной патологии – на уровне сывотки крови с последующими изменениями органов и тканей. По-видимому, имеет место конфликт локальных и системных реакций с неэффективной реализацией барьерных функций организма [12].

Выявленное патоморфологическими методами исследования определенное сходство морфологических изменений в легких явилось дополнительным подтверждением полученных результатов и заключений. Так, при моделировании реперфузионного синдрома уже через шесть часов после восстановления кровотока в микропрепаратах легких имеют место выраженные нарушения микроциркуляции, дегрануляция тканевых базофилов, структурно-функциональные изменения альвеолярных макрофагов, повреждение компонентов аэрогемаического барьера, сходные с формированием воспалительных изменений при пневмониях. Отмечаются ультраструктурные повреждения, проявляющиеся деструкцией митохондрий с дезориентацией крист и развитием отека.

На локальном и системном уровнях при «классическом» воспалении и реперфузионном синдроме, рассматриваемом в качестве модели ССВР, происходят сходные изменения. Общность изменений в протеиназ-ингибиторной системе, механизмах альтерации и микроциркуляторных нарушений подтверждает концепцию развития системного воспалительного ответа при шоке. Можно констатировать, что разница состоит только в пусковых механизмах (системная или локальная активация биологически активных веществ (БАВ)) и в уровне сосудистых ответов. Сравнительная характеристика развития локального воспаления и синдрома системной воспалительной реакции с учетом фазности течения процессов показала значительное сродство патогенетических механизмов. Так, инициативное локальное высвобождение медиаторов в очаге «классического» воспаления соответствует значительному накоплению БАВ в крови на организменном уровне при действии системного экстремального фактора. Нарушения микроциркуляции в

очаге воспаления характеризуются кратковременным спазмом сосудов, сменяющимся вазодилатацией с последующим замедлением кровотока и стазом. При развитии ССВР также наблюдается спазм резистивных сосудов, который сменяется их расширением и в дальнейшем приводит к прогрессирующему падению периферического сопротивления, как следствие, возникает дезинтеграция и недостаточность кровообращения. Таким образом, стадийность реакции сосудов в ответ на действие аналогичных БАВ практически полностью совпадает. Но если при локальном воспалении изменения носят защитный характер и практически способствуют переводу воспаления в стадию пролиферации, при системной реакции данные изменения могут быть ключевым фактором развития осложнений и летального исхода. Экссудации в классическом варианте локального воспалительного процесса соответствует дисфункция эндотелия с увеличением сосудистой проницаемости и потерей жидкой части плазмы крови. В качестве исходов можно рассматривать реконвалесценцию, завершающую пролиферативную стадию локального воспаления, и развивающуюся в результате адекватного баланса про- и противовоспалительных сил, и неблагоприятный летальный исход при генерализации и распространении медиаторов в случае с ССВР при отсутствии адекватных лечебных мероприятий.

Экспериментальные и клинические данные, представленные в исследовании, позволяют говорить, что ССВР может иметь ведущее значение в патогенезе шоковых состояний различной этиологии. Причинами системной альтерации может стать барьерная несостоятельность очага воспаления, а также неуправляемое использование флогогенного потенциала при «классических» вариантах воспаления. Иногда действие повреждающего фактора может носить изначально системный характер. Временной диапазон, в котором действие системной альтерации еще не приводит к очевидному генерализованному запуску воспалительных механизмов, можно условно обозначить переходной стадией. Продолжительность этой стадии определяется выраженностью альтерации, а также состоянием компенсаторных систем организма.

Несостоятельность барьерных и противовоспалительных механизмов, тотальное включение провоспалительного потенциала сопровождается диссеминированным внутрисосудистым свертыванием крови, аутофагоцитарной патологией, нарастающими микроциркуляторными расстройствами и другими проявлениями синдрома комплекса ССВР. Эти проявления усиливают разбалансировку гомеостаза и выступают в качестве факторов вторичной системной альтерации. Формирование порочного круга делает процесс все более и более трудно обратимым, особенно при развитии полиорганной недостаточности. Ключевым механизмом синдрома комплекса ССВР, по нашему мнению, являются нарастающие микроциркуляторные расстройства в различных органах и тканях, приводящие к изменению многих параметров гомеостаза. В результате синдром системной

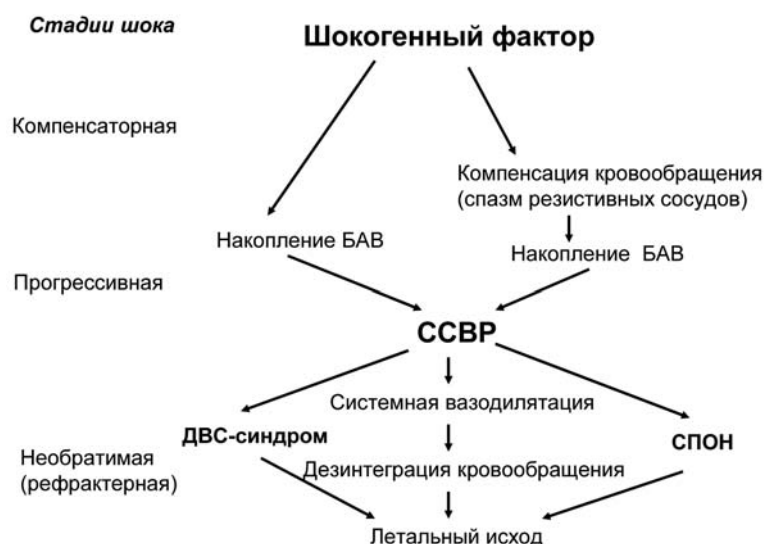


Рис. 1. Место ССВР в развитии критических состояний.

воспалительной реакции приводит к выраженным и распространенным микроциркуляторным расстройствам, микротромбообразованию и чрезмерному накоплению в кровотоке регуляторных медиаторов воспаления: цитокинов, эйкозаноидов, протеолитических ферментов, оксида азота и т. д., что существенно увеличивает риск развития синдрома полиорганной недостаточности. Кроме того, полученные в работе результаты, с одной стороны, подтверждают схожесть механизмов участия компонентов протеиназ-ингибиторной системы в развитии системного воспаления, а с другой, свидетельствуют о возможности использования их определения в качестве маркеров развития ССВР.

Полученные экспериментально-клинические данные положены в основу схемы патогенеза шока с участием механизмов формирования ССВР (рис. 1).

Накопление и поступление в системный кровоток провоспалительных БАВ с вазодилататорной активностью, обусловленное действием шокогенных факторов и несостоятельностью противовоспалительных механизмов, приводит к дезинтеграции кровообращения с формированием СПОН и ДВС и возможного развития летального исхода.

Таким образом, сформулирована и предложена новая классификация шоковых состояний, которая объединяет концепции шока и ССВР. Используемые в настоящее время классификации не отражают общность патогенетических механизмов и не позволяют рассматривать шок как типический патологический процесс. Так, классификация шоков по ключевому механизму нарушения циркуляции практически все виды шока предлагает отнести к гиповолемическому, а этиологическая классификация, не затрагивая основные патогенетические механизмы, опирается только на причину, которая привела к развитию шока. Преимущество предложенной классификации состоит в том, что в качестве определяющего критерия выбрано важное звено в патогенезе шока, которое, с одной

стороны, объединяет шоки и позволяет рассматривать их в контексте доктрины о типических патологических процессах, а с другой, позволяет оптимизировать диагностические и лечебные мероприятия.

Все шоки могут быть разделены на 2 группы: 1) шок с первичным развитием ССВР и 2) шок с вторичным развитием ССВР. При шоках с первичным развитием ССВР чрезмерная активация БАВ и их накопление носит первичный характер. При этом процессы дезинтеграции кровообращения вторичны. По такому типу развиваются инфекционно-токсический, септический, турникетный, анафилактический шоки, синдром ишемии-реперфузии и др. При шоках с вторичным развитием ССВР на первое место выходит процесс дезинтеграции кровообращения. Именно нарушение кровообращения приводит к некробиозу и гибели клеток, которые в ходе гибели выделяют провоспалительные аутокоиды, к накоплению БАВ в периферических тканях и вторичному развитию ССВР [12]. По данному механизму развиваются травматический, ожоговый, геморрагический, кардиогенный, гиповолемический, нейрогенный шоки.

На основании данной классификации могут быть разработаны подходы к стадийной диагностике экстремальных состояний, что позволит в дальнейшем оптимизировать лечебную тактику. Наиболее перспективным путем профилактики осложнений экстремальных состояний являются мероприятия, направленные на предупреждение развития и прогрессирования СПОН и, прежде всего, выявление пусковых механизмов возникновения и особенностей ее прогрессирования. Представленные научные разработки позволяют предположить, что пусковым механизмом развития СПОН любого генеза является синдром системной воспалительной реакции. Можно предположить, что при шоке с первичным развитием ССВР первоначально основное внимание должно быть направлено на терапию системного воспаления и профилактику циркуляторных расстройств, а при шоке с

вторичным развитием ССВР основное внимание должно быть направлено на первоочередную нормализацию циркуляторных расстройств и профилактику развития ССВР. Несомненно, расшифровка механизмов формирования ССВР и экстремальной патологии требует проведения дальнейших разносторонних исследований.

#### Выводы

Выявленные закономерности изменений в протеиназ-ингибиторной системе при локальном воспалении и синдроме ишемии-реперфузии на организменном и органном уровнях позволили сформировать концепцию о роли синдрома системной воспалительной реакции в развитии экстремальных ситуаций. В результате проведенных исследований предложена классификация шоков на основе интеграции концепций шока и синдрома системной воспалительной реакции, в рамках которой рекомендуется выделять шоки с первичным и вторичным формированием ССВР.

#### Список литературы

1. *Alberti C.* Systemic inflammatory response and progression to severe sepsis in critically ill infected patients / Alberti C., Brun Buisson C., Chevret S. et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 171, №5. – P. 461–468.
2. *Гусев Е.Ю.* Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса / Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Юрченко Л.Н. // *Цитокины и воспаление*, 2007. Т. 6, № 4. С. 9-21.
3. *Чурилов Л.П.* Автономия воспалительного очага, аутохтонность и барьерные функции воспаления / Чурилов Л.П. // *Основы общей патологии* / Под ред. Зайчика А.Ш., Чурилова Л.П. – СПб.: ЭлБи-Спец. лит-ра, 1999. – С. 278–284.
4. *Wystrom P.O.* The systemic inflammatory response syndrome: definition and aetiology / Wystrom P.O., Crisman J.W.m Lancaster L.H., Blackwell T.S. // *S. Antimicrob. Chemoter.* – 1998. – Vol. 47, Suppl. A. – P. 1–7.
5. *Afessa B.* SIRS, organ failure and outcome in critically ill obstetric patients / Afessa B., Green B., Delke I., Koch K. // *Chest.* – 2001. – №120. – P. 1271–1277.
6. *Shibata K.* The epidemiology of SIRS and sepsis in Japan / Shibata K., Funada H. // *Nippon. Rinsho.* – 2004. – Vol. 62, №12. – P. 2184–2188.
7. *Carvalho P.R.A.* Prevalence of systemic inflammatory syndromes at a tertiary pediatric intensive care unit / Carvalho P.R.A., Feldens L., Seitz E.E. et al. // *J. Pediatr. (Rio. J.).* – 2005. – Vol. 81, №2. – P. 143–148.
8. *Шано В.П.* Синдром системного воспалительного ответа и полиорганные нарушения / Шано В.П. // *Біль, знеболювання і інтенсивна терапія*. – 2003. – №2 (Д). – С. 64–65.
9. *Brun-Buisson C.* The epidemiology of systemic inflammatory response / Brun-Buisson C. // *Intensive Care Med.* – 2000. – №26. – P. 64–74.
10. *Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей* / Страсбург, 18 березня 1986 року: Зб. договорів Ради Європи: Українська версія / Є.М. Вишневський (пер. та ред.). – К.: Парламентське видавництво, 2000. – 654 с.
11. *Кубышкин А.В.* Методи визначення активності неспецифічних протеїназ та їх інгібіторів у сироватці крові і біологічних рідинах: Метод. реком. / Кубышкин А.В., Харченко В.З., Семенець П.Ф., Алієв Л.Л., Фомочкина І.І. Анісімова Л.В. – Установа-розробник: Державна установа «Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського» МОЗ України. – К., 2010. – 28 с.
12. *Чурилов Л.П.* О системном подходе в общей патологии: необходимость м принципы патоинформатики / Чурилов Л.П. // *Вестник Санкт-Петербургского университета.* – 2009. – Серия 11, вып. 3. – С. 5–23.

#### Сведения об авторах:

Фомочкина И.И., к. мед. н., ассистент каф. патологической физиологии КГМУ им. С.И. Георгиевского.  
Кубышкин А.В., д. мед. н., профессор, зав. каф. патологической физиологии КГМУ им. С.И. Георгиевского.

Надійшла в редакцію 05.06.2012 р.