

УДК 616.153:[616.36-003.826-06:616.24-007.272

Т.П. Цинтар

**ПРОТЕОЛІТИЧНА ТА ФІБРИНОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПЛАЗМИ КРОВІ ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОМУ СТЕАТОГЕПАТИТІ, ПОЄДНАНОМУ З ХРОНІЧНИМ ОБСТРУКТИВНИМ ЗАХВОРЮВАННЯМ ЛЕГЕНЬ**

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** Обстежено 30 хворих на неалкогольний стеатогепатит, 30 хворих на хронічне обструктивне захворювання легень та 30 хворих на неалкогольний стеатогепатит у поєднанні з хронічним обструктивним захворюванням легень. Встановлено істотніше підсилення протеолізу низько- і високомолекулярних білків, колагенолітичної активності плазми крові та нефермен-

тативного фібринолізу на тлі зменшення вмісту  $\alpha_2$ -макроглобуліну в сироватці крові та більш вираженого зниження активності ферментативного фібринолізу при зазначеній поєднаній патології.

**Ключові слова:** неалкогольний стеатогепатит, хронічне обструктивне захворювання легень, протеоліз, фібриноліз.

**Вступ.** Протеоліз є особливою формою біологічного контролю, що забезпечує гомеостаз у нормі і при розвитку адаптаційно-захисних реакцій організму [5]. При некерованому протеолізі відбувається деструкція клітин, активація систем згортання, фібринолізу, комплементу і кініногенезу [1, 3, 14].

Активність протеолізу є причиною розвитку багатьох патологічних процесів. Протеолітичні ферменти плазми крові і тканин організму, як правило, здатні посилювати дію на організм патогенних факторів: бактерій, вірусів [4], токсичних речовин навколишнього середовища [6], що супроводжується патологією бронхолегеневої системи та органів травлення [15]. В останні роки велика увага приділяється вивченню ролі інгібіторів протеолізу в біологічних рідинах. Плазмові інгібітори виявляються в секреті бронхів, жовчі, спинномозковій і навколоплідній рідинах, дуоденальної слизової [13].

Значимість плазмового протеолізу та фібринолізу для розвитку неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) на тлі хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) залишається недостатньо вивченою.

**Мета дослідження.** Дослідити зміни протеїназо-інгібіторної системи та фібринолітичної активності плазми крові при неалкогольному стеатогепатиті, поєднаному з ХОЗЛ.

**Матеріал і методи.** Обстежено 30 хворих на НАСГ (1-ша група), 30 пацієнтів з ХОЗЛ (2-га група), та 30 хворих на НАСГ у поєднанні з ХОЗЛ (3-тя група). Групу контролю склали 30 практично здорових осіб. Хворі за віком і статтю статистично не відрізнялися між собою. Діагноз НАСГ встановлений на підставі ультразвукових ознак жирової інфільтрації печінки в поєднанні з біохімічними маркерами: підвищення активностей аланінамінотрансферази (АлАт), аспартатамінотрансферази (АсАт), гамаглутамілтранспептидази (ГГТП), співвідношення АсАт/АлАт, тимолової проби, вмісту загального білірубину та його фракцій у сироватці крові. Критеріями виключення з обстеження були зловживання алкоголем, а також виявлені позитивні маркери вірусних гепа-

титів. Діагноз ХОЗЛ та ступінь тяжкості його перебігу встановлювали згідно з наказом МОЗ України №128 від 19.03.2007 р. «Про затвердження протоколів надання допомоги за спеціальністю «Пульмонологія». В обстеження включені хворі на ХОЗЛ із II та III стадією, які перебували на стаціонарному лікуванні з приводу загострення захворювання. Параметри функції зовнішнього дихання (ФЗД) визначали за допомогою комп'ютерного спірографа «VTL-08 Spiro-Pro» (Великобританія).

Фібринолітичну активність крові визначали за лізисом азофібрину (Danish Ltd, Львів) з аналізом сумарної (СФА), неферментативної (НФА) (інкубація при наявності інгібітору ензиматичного лізису фібрину –  $\epsilon$ -амінокапронової кислоти), ферментативної фібринолітичної активності (ФФА), яку розраховували за формулою: ФФА = СФА - НФА. Стан необмеженого протеолізу оцінювали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу (Danish Ltd, Львів) [2]. Досліджували також вміст  $\alpha_2$ -макроглобуліну в сироватці крові [1].

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою прикладних програм статистичного аналізу з використанням пакета ліцензійних програм «Microsoft Excel 2010» (Microsoft) та «Statistica® 6.0» (StatSoftInc., США) з використанням дисперсійного аналізу.

**Результати дослідження та їх обговорення.** При аналізі показників протеїназо-інгібіторної системи крові (табл.) встановлено вірогідне підвищення протеолізу низькомолекулярних білків (лізис азоальбуміну), високомолекулярних білків (лізис азоказеїну) у 2,2 і 2,1 раза відповідно – у хворих на НАСГ; у 2 і 2,2 раза відповідно – у хворих на ХОЗЛ; у 2,7 і 2,7 раза – у хворих на НАСГ із супутнім ХОЗЛ. При цьому відмінності між 1-ю і 3-ю та 2-ю і 3-ю групами були вірогідними ( $p < 0,05$ ). Найвищою за поєднаної патології виявилася також колагенолітична активність крові (лізис азоколу), яка на 70 % перевищувала нормальні показники ( $p < 0,05$ ).

У регуляції протеолітичних процесів беруть участь інгібітори внутрішньоклітинних і позаклітинних протеїназ [1]. Встановлено, що інгібітор-

Таблиця

## Протеолітична та фібринолітична активність плазми крові у хворих на неалкогольний стеатогепатит, поєднаний із хронічним обструктивним захворюванням легень (M±m)

Показники	Практично здорові особи (n=30)	Неалкогольний стеатогепатит (1-ша група) (n=30)	ХОЗЛ (2-га група) (n=30)	НАСГ, поєднаний із ХОЗЛ (3-тя група) (n=30)
Лізіс азоальбуміну, E <sub>440</sub> /мл/год	2,61±0,10	5,70±0,23*	5,18±0,19*	7,08±0,25 */**/**
Лізіс азоказеїну, E <sub>440</sub> /мл/год	2,18±0,14	4,61±0,17*	4,77±0,18*	5,93±0,29 */**/**
Лізіс азоколу, E <sub>440</sub> /мл/год	0,90±0,07	0,95±0,05	1,28±0,09**	1,53±0,10 */**
α <sub>2</sub> -макроглобулін, мкмоль/л	2,57±0,12	3,72±0,16*	2,01±0,10**	1,68±0,09 */**
Сумарна фібринолітична активність крові, E <sub>440</sub> /мл/год	1,56±0,04	1,35±0,03*	1,44±0,04*	1,29±0,04 */**
Ферментативна фібринолітична активність крові, E <sub>440</sub> /мл/год	1,09±0,04	0,69±0,02*	0,73±0,02*	0,44±0,03 */**/**
Неферментативна фібринолітична активність крові, E <sub>440</sub> /мл/год	0,47±0,03	0,66±0,03*	0,71±0,03*	0,85±0,03 */**/**

Примітка. n – кількість хворих у підгрупі; \* – вірогідність змін щодо контролю; \*\* – вірогідність змін щодо групи хворих на НАСГ; \*\*\* – вірогідність змін між групою хворих на ХОЗЛ та НАСГ у поєднанні з ХОЗЛ

на активність плазми крові на 95 % представлена α<sub>1</sub>-інгібітором протеїназ (α<sub>1</sub>-ІІІ) і α<sub>2</sub>-макроглобуліном (α<sub>2</sub>-МГ).

Окрім пригнічення протеїназ відомі й інші численні функції α<sub>2</sub>-МГ, зокрема активація внутрішньоклітинних шляхів сигнальної трансдукції та регуляція імунної системи [9]. Його іноді відносять до білків гострої фази запалення, про-, антиапоптозних факторів, білків теплового шоку, позаклітинних шаперонів, радіопротекторів [16].

Дослідження вмісту α<sub>2</sub>-МГ у сироватці крові виявило вірогідне збільшення його вмісту на 44,7 % тільки у хворих на НАСГ, ймовірно, як компенсаторну реакцію на підсилення процесів необмеженого протеолізу. У хворих на ХОЗЛ, а також за поєднання НАСГ із ХОЗЛ спостерігалося зниження концентрації α<sub>2</sub>-МГ на 21,8 % та на 34,6 % відповідно (p<0,05), що може свідчити про декомпенсацію інгібіторного потенціалу плазми крові.

Відомо, що інгібітори протеїназ мають також протизапальну, антибактеріальну, противірусну і протипухлинну дію [12]. Виявлено велику кількість варіантів реагування інгібіторів протеолізу: від підвищення їх активності [11], до зниження [10] і різноспрямованої реакції [7]. Неоднозначність оцінки ролі інгібіторів протеолізу в реакціях адаптації та розвитку патологічних процесів призводить до істотних труднощів при використанні їх як діагностичних і прогностичних критеріїв.

При неалкогольному стеатогепатиті, поєднаному з ХОЗЛ, встановлено також найбільш виражене пригнічення сумарної (на 17,3 %) та ферментативної (у 2,5 рази) фібринолітичної активності

плазми крові на тлі вірогідного зростання неферментативної фібринолітичної активності крові (на 80,9 %). У пацієнтів 1-ї та 2-ї груп зазначені зміни становили 13,5 %; 36,7 %; 40,4 % та 8,3 %; 33 %; 51,1 % відповідно.

Підсилення неферментативного фібринолізу, який здійснюється комплексними сполуками гепарину з гормонами (особливо активний комплекс гепарин-АТ ІІІ-адреналін) і компонентами системи згортання та не пригнічується антиплазміном й антиактиваторами плазміну, можна пояснити компенсаторною відповіддю організму на виражене пригнічення ферментативної ланки фібринолізу.

### Висновок

Неалкогольний стеатогепатит у поєднанні з хронічним обструктивним захворюванням легень супроводжується істотнішим, ніж за їх ізольованого перебігу, підсиленням лізису низько- та високомолекулярних білків, колагенолітичної активності крові, неферментативного фібринолізу на тлі зменшення вмісту α<sub>2</sub>-макроглобуліну та більш вираженого зниження ферментативної фібринолітичної активності крові.

**Перспективи подальших досліджень.** Потребують подальшого вивчення загальні патогенетичні механізми розвитку неалкогольного стеатогепатиту та хронічного обструктивного захворювання легень з метою удосконалення способів лікування зазначеної поєднаної патології.

### Література

1. Веремеєнко К.Н. Протеоліз в нормі і при патології / К.Н. Веремеєнко. – К.: Здоров'я, 1993. – 277 с.
2. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії: навч.-

- метод. посіб. [В.М.Магальяс, А.О. Міхеев, Ю.С.Роговий та ін.]. – Чернівці: Буковинська державна медична академія, 2001. – 42 с.
3. Abboud R.T. Pathogenesis of COPD. Part I. The role of protease-antiprotease imbalance in emphysema / R.T. Abboud, S. Vimalanathan // *Int. J. Tuberc. Lung.* – 2008. – Vol. 12, № 4. – P. 361-367.
  4. Alcorn J.F. Degradation of pulmonary surfactant protein D by *Pseudomonas aeruginosa* elastase abrogates innate immune function / J.F. Alcorn, J.R. Wright // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, № 29. – P. 30871-30879.
  5. Alpha 1-antitrypsin polymerization: a fluorescence correlation spectroscopic study / P. Purkayastha, J.W. Klemke, S. Lavender [et al.] // *Biochemistry.* – 2005. – Vol. 44, № 7. – P. 2642-2649.
  6. Alveolar macrophages are the main source for tumour necrosis factor-alpha in patients with sarcoidosis / H. Fehrenbach, G. Zissel, T. Goldmann [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 21, № 3. – P. 421-428.
  7. Diverse responses between human pancreatic cancer cell lines to native alpha 1-antitrypsin and its C-terminal fragment / I. Zelvyte, B. Ohlsson, J. Axelson [et al.] // *Anticancer Res.* – 2003. – Vol. 23, № 3B. – P. 2267-2273.
  8. Doumas S. Anti-inflammatory and antimicrobial roles of secretory leukocyte protease inhibitor / S. Doumas, A. Kolokotronis, P. Stefanopoulos // *Infect. Immun.* – 2005. – Vol. 73, № 3. – P. 1271-1274.
  9. Effects of tobacco smoking on alpha-2-macroglobulin and some biochemical parameters in Thai males / K. Suriyaprom, T. Hamroongroj, P. Namjuntra [et al.] // *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* – 2007. – Vol. 38, № 5. – P. 918-926.
  10. Gooptu B. Polymers and inflammation: disease mechanisms of the serpinopathies / B. Gooptu, D.A. Lomas // *J. Exp. Med.* – 2008. – Vol. 205, № 7. – P. 1529-1534.
  11. He Q.Y. Serological proteomics of gastritis: degradation of apolipoprotein A-I and alpha1-antitrypsin is a common response to inflammation irrespective of *Helicobacter pylori* infection / Q.Y. He, H. Yang, B.C. Wong [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* – 2008. – Vol. 53, № 12. – P. 3112-3118.
  12. He S.H. Inhibition of trypsin and chymase induced nucleated cell infiltration by proteinase inhibitors / S.H. He, H.Q. Chen, J. Zheng // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2004. – Vol. 25, № 12. – P. 1677-1684.
  13. Interrelationship between serum and sputum inflammatory mediators in chronic obstructive pulmonary disease / L. Bizeto, A.B. Mazzolini, M. Ribeiro [et al.] // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2008. – Vol. 41, № 3. – P. 193-198.
  14. Proteinase-activated receptors: transducers of proteinase-mediated signaling in inflammation and immune response / M. Steinhoff, J. Buddenkotte, V. Shpacovitch [et al.] // *Endocr. Rev.* – 2005. – Vol. 26, № 1. – P. 1-43.
  15. Relationship of proteinases and proteinase inhibitors with microbial presence in chronic lung disease of prematurity / P.L. Davies, O.B. Spiller, M.L. Beeton [et al.] // *Thorax.* – 2010. – Vol. 65, № 3. – P. 246-251.
  16. The acute-phase protein alpha2-macroglobulin plays an important role in radioprotection in the rat / M. Mihailović, S. Dobrić, G. Poznanović [et al.] // *Shock.* – 2009. – Vol. 31, № 6. – P. 607-614.

### ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ И ФИБРИНОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВИ ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОМ СТЕАТОГЕПАТИТЕ, СОЧЕТАННОМ С ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ

*Т.П. Цинтарь*

**Резюме.** Обследовано 30 больных неалкогольным стеатогепатитом, 30 больных хроническим обструктивным заболеванием легких и 30 больных неалкогольным стеатогепатитом в сочетании с хроническим обструктивным заболеванием легких. Установлено существенное усиление протеолиза низко- и высокомолекулярных белков, коллагенолитической активности плазмы крови и неферментативного фибринолиза на фоне уменьшения содержания  $\alpha_2$ -макроглобулина в сыворотке крови и более выраженное снижение активности ферментативного фибринолиза при указанной сочетанной патологии.

**Ключевые слова:** неалкогольный стеатогепатит, хроническое обструктивное заболевание легких, протеолиз, фибринолиз.

### PLASMA PROTEOLYTIC AND FIBRINOLYTIC ACTIVITY IN NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS, COMBINED WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

*T.P. Tsyntar*

**Abstract.** The study involved 30 patients with NASH, 30 patients with chronic obstructive pulmonary disease and 30 patients with non-alcoholic steatohepatitis in combination with chronic obstructive pulmonary disease. A substantial enhancement of proteolysis low and high molecular weight proteins, of collagenolytic activity of plasma and nonenzymatic fibrinolysis against reduction of content of  $\alpha_2$ -macroglobulin in serum and more pronounced decrease in activity of the enzymatic fibrinolysis in this combined pathology.

**Key words:** nonalcoholic steatohepatitis, chronic obstructive pulmonary disease, proteolysis, fibrinolysis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. Л.Д. Тодоріко

*Buk. Med. Herald.* – 2014. – Vol. 18, № 4 (72). – P. 169-171

Надійшла до редакції 30.10.2014 року