Протеїнази деструктивної дії в дітей із бронхолегеневою дисплазією в залежності від форми захворювання / Черненко Л.М., Муратов Г.Р., Шипко А.Ф. / Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки». – 27-28 лютого 2015. – Львів. – С. 78-81.

**Черненко Л.М. кандидат медичних наук, асистент,**

**Муратов Г.Р. кандидат медичних наук, доцент,**

**Шипко Андрій Федорович, кандидат медичних наук, здобувач вченого ступеня доктора медичних наук**

*Харківський національний медичний університет МОЗ України*

*Кафедра педіатрії №1 та неонатології*

**ПРОТЕЇНАЗИ ДЕСТРУКТИВНОЇ ДІЇ**

**В ДІТЕЙ ІЗ БРОНХОЛЕГЕНЕВОЮ ДИСПЛАЗІЄЮ**

**В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ФОРМИ ЗАХВОРЮВАННЯ**

На цей час однією з найсуттєвіших проблем пульмонології, в тому числі й дитячої, є пошук шляхів, що дозволять загальмувати прогресування хронічного захворювання легень. Тому продовжується пошук більш чутливих, тонких маркерів подальшого враження клітин та 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 [1, 2]. Відомо, що незалежно від типу первинного ураження, легені зазнають адаптивних гемодинамічних, біохімічних, клітинних та молекулярних змін, які характеризуються «ендотеліальною дисфункцією» і акумуляцією депозитів екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) в інтерстиції. Ці процеси призводять до підвищення проникності мембран та ремоделювання інтерстиціальної тканини з можливим формуванням фіброзу. Стан ендотелію, кількість ЕЦМ в інтерстиції залежить від співвідношення між продукцією білків та їх руйнуванням протеазами. Тому однією з причин фіброзу інтерстицію може бути порушення балансу протеїназа-інгібітор протеїназ [3, 4].

Під назвою «еластази» об’єднали групу ендопептідаз, які наявні в різних органах і тканинах та мають ензиматичну еластазолітичну функцію. Вони спроможні також гідролізувати колагени III, VI і VIII генетичних типів,  протеоглікани, гемоглобін, велику кількість білків плазми крові, зокрема фактори гемокоагуляції, фібринолізу, комплемента та ін. Важливе значення для функціонування судинної стінки легень та інтерстицію мають серинова ендотеліальна еластаза, металоеластаза макрофагів. Регуляція активності еластаз в організмі відбувається за участю α-1-інгібітора протеїназ (α-1-ІП) та α-2-макроглобуліна (α-2-МГ), які відносяться до серпінів. Активація ендотеліальної еластази в організмі людини має двоякий характер завдяки наявності в цієї ендопептидази прозапального і протизапального ефектів. Встановлено, що вона має літичну активність по відношенню до цитокінів запалення, блокує 1-ий і 3-ій рецептори комплемента, що знижує міграцію Т-лімфоцитів і нейтрофілів до вогнища, гальмуючи їхні адгезивні якості, також бере участь у природній деградації матриксних білків - еластина, колагена, фібронектина, ламініна, протеогліканів. Фрагменти еластину (при деструкції ЕЦМ легеневої паренхіми) можуть підтримувати запалення, діючи як потужні хемостатичні агенти для макрофагів і нейтрофілів. Запускається порочне коло запалення із залученням прозапальних цитокінів, і дія еластаз розповсюджується на більш значні ділянки легень [5, 6]. У той час, фіброз інтерстицію може бути наслідком зменшення активності протеїназ, можливо, завдяки порушенню балансу протеїназа-інгібітор протеїназ [7].

*Мета* – визначити активність протеїназ деструктивної дії в дітей із різними формами бронхолегеневої дисплазії.

*Матеріали й методи.* Дослідження проводилося на кафедрі педіатрії №1 та 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-а група), у 16 – нову форму БЛД (2-а група), у 15 – БЛД доношених (3-я група). Діагноз бронхолегеневої дисплазії було встановлено згідно міжнародній класифікації хвороб 10-го перегляду. Ураховуючи відсутність даних щодо значення рівнів протеїназ та їхніх інгібіторів у здорових дітей раннього віку в сироватці крові, для визначення нормативних показників було обстежено 12 умовно здорових дітей віком від 1 місяця до 3-х років, які склали групу контролю.

Досліджували загальну активність еластаз (Ел), рівень ендотеліальної еластази (ЕЕл), металоеластази (МеЕл), а також їх основного інгібітору – еластазо-інгібіторної активності α-1-ІП (ЕІА α-1-ІП) з використанням високочутливого (10-9 – 10-10 г) ферментативного методу, який розроблено у ДУ «Інститут терапії імені Л.Т.Малої АМН України» (Самохіна Л.М., 1997, 2001, 2002, 2004) [8]. Роботу було виконано згідно з етичними принципами медичного дослідження, що проводяться на людях, які були прийняті 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 двох вибірок використовували непараметричний U-критерій Манна-Уітні (MW). Різницю параметрів, що порівнювали за двома точками, вважали статистично значущою при р<0,05. Підчас співставлення показників, які характеризувалися порівнянням більше ніж 2 точок, використовували дисперсійний аналіз Краскела-Уолліса, а відмінності вважали вірогідними з урахуванням поправки Бонферроні (при р^=p/k, де k – кількість парних порівнянь).

*Результати та їх обговорення.* Порівняльний аналіз активності еластаз різного походження та їхніх інгібіторів у сироватці крові дітей із бронхолегеневої дисплазією виявив наявність вірогідних групових відмінностей під час множинного порівняння Краскла-Уолліса щодо активності металоеластази та еластазо-інгібіторної активності α-1-ІП у сироватці крові, бо за цими показниками Н-критерій статистично значущий.

Під час оцінювання активності еластаз було з’ясовано, що в дітей 1-ої групи відзначається вірогідне зменшення рівня еластази (р=0,05), ЕІА α-1-ІП (р=0,02) та збільшення рівня МеЕл (р=0,05) в сироватці крові порівняно з контролем, що ймовірно вказує про вичерпаність резервів головного інгібітору еластаз. Доказом цього є позитивний вірогідний зв'язок між активністю еластази та ЕІА α-1-ІП (r= + 0,69, р=0,000). За даними літератури [3, 4], дані зміни можна визнати проявом оксидативного стресу, одного із ключових ланок формування БЛД та при прогресуванні патологічного процесу може свідчити про високу деструктивну дію еластаз.

У дітей 2-ої групи активність Ел, ЕЕл, МеЕл та рівень ЕІА α-1-ІП суттєво не відрізнялися від показників у здорових дітей. Відсутність достатньої активності Ел, яка бере участь у природній деградації матриксних білків (еластину, колагену, фібронектину, ламініну, протеогліканів), та нормативні рівні МеЕл, які неспроможні активізувати каскад інших металопротеїназ, при новій формі БЛД можуть створювати умови для накопичення екстрацелюлярного матриксу.

У пацієнтів 3-ої групи відзначалося лише вірогідне зниження рівня еластазо-інгібіторної активності α-1-ІП в сироватці крові, що може обумовити в подальшому активізацію і розповсюдження дії еластаз як результат недостатньої активації реакцій лімітованого протеолізу, каталітичної спроможності протеолітичних ферментів, обумовлених повсякденною діяльністю у вигляді активації регуляторних механізмів контролю накопичення ЕЦМ.

Інактивація еластаз проходить переважно завдяки ЕІА α-1-ІП і частково α-2-МГ. При низькому рівні ЕІА α-1-ІП відбувається неможливість пригнічення активності еластаз цим інгібітором. Підтвердженням цього є висока активність α-2-МГ у сироватці крові, що діє в умовах вичерпаності резервів головного інгібітору еластази – ЕІА α-1-ІП. У нашому дослідженні на користь цього свідчить наявність вірогідного кореляційного зв’язку між α-2-МГ і ЕЕл (r= + 0,28, р<0,01), та між α-2-МГ і МеЕл (r= + 0,22, р<0,05).

*Висновки.*

1. У дітей із бронхолегеневою дисплазією встановлено наявний 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 із класичною формою БЛД вірогідно підвищені рівні МеЕл (р<0,05), знижені рівні Ел (р<0,05) та ЕІА α-1-ІП (р<0,05), що свідчить про високий рівень деструкції, призводить до посилення фіброзних процесів легеневої тканини з наступною втратою функції. У дітей із новою формою БЛД активність протеїназ деструктивної дії є незмінною, що відносить цю когорту хворих до більш сприятливих форм захворювання. У дітей із БЛД доношених зниження рівня ЕІА α-1-ІП (р<0,01) є свідченням неможливості пригнічення активності еластаз та високого ступеня деструктивних процесів.

**Література:**

* + - 1. Овсянников Д.Ю. Система оказания медицинской помощи детям, страдающим бронхолегочной дисплазией / Овсянников Д.Ю., Кузьменко Л.Г. // Руководство для практикуючих врачей. – Москва. – 2010. – С. 151.
      2. Сучасні особливості діагностики і ранні прогностичні критерії формування бронхолегеневої дисплазії у немовлят з дуже малою масою тіла при народженні / О. П. Борисюк, Д. О. Добрянський, З. В. Салабай [та ін.] // Перинатология и педиатрия. – 2011. – № 2 (46). – С. 35–42.
      3. Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и при патологии / Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. // Киев. – Здоровье. – 1988. – 198 с.
      4. Веремеенко К.Н. Протеолитические ферменты и апоптоз / Веремеенко К.Н., Досенко В.Е., Нагибин В.С. // Український біохімічний журнал. – 2003. – Т.75. - №6. – С. 10-24.
      5. Elastase inhibitory activity of airway α1-antitrypsin is protected by treatment with a catalytic antioxidant in a baboon model of severe bronchopulmonary dysplasia / С. Karaaslan, Н. Hirakawa, R. Yasumatsu [et al.] // Pediatr. Res. – 2011. – Vol. 70, № 4. – Р. 363–367.
      6. Morty R. E. Targeting elastase in bronchopulmonary dysplasia / R. E. Morty // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2011. – Vol. 184, № 5. – Р. 496–497.
      7. Matrix metalloproteinase-9 deficiency worsens lung injury in a model of bronchopulmonary dysplasia / Н. Lukkarinen, А. Hogmalm, U. Lappalainen, К. Bry // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. – 2009. – Vol. 41, № 1. – Р. 59–68.
      8. Самохіна Л.М. Способ определения активности протеиназ или их ингибиторов в биологических жидкостях / Самохина Л.М., Дубинин А.А. // МПК G 01 № 33/48, С 12 Q 1/38; Заявка № 4654144 от 22.02.89г. – Патент России № 1655991 от 20.01.94 г.