

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ
БЕЛОРУССКОЕ ОБЩЕСТВО ФИЗИОЛОГОВ



**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ
ОРГАНИЗМА
В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ**

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ

*Под общей редакцией
доктора медицинских наук, профессора В. С. Улащика
и доктора биологических наук А. Г. Чумака*

МИНСК
РИВШ
2008

УДК 612.8.04:612.015 (082)

ББК 28.707.3

Ф94

Рекомендовано :
Ученым советом Института физиологии
Национальной академии наук Беларуси
(протокол № 7 от 04.09.2008 г.)

Редакционная коллегия :

д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси (гл. ред.) *В. С. Улащик*;
д-р биол. наук, проф. (ред. разд.) *В. Н. Калюнов*;
д-р мед. наук, профессор, чл.-кор. НАН Беларуси (ред. разд.) *В. А. Кульчицкий*;
д-р биол. наук, проф. (ред. разд.) *В. Н. Никаноров*;
д-р биол. наук (ред. разд.) *А. Г. Чумак*;
д-р биол. наук, проф. *Л. И. Арчакова*;
д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси *Ф. И. Висмонт*;
д-р биол. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси *В. В. Солтанов*;
д-р мед. наук, проф. *А. И. Кубарко*;
канд. биол. наук (отв. секр.) *В. С. Левковец*;
канд. биол. наук, доц. *А. В. Сидоров*

Рецензенты :

д-р мед. наук, проф., акад. НАН Беларуси *И. П. Антонов*;
д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси *Л. М. Лобанок*;
д-р биол. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси *Е. И. Слобожанина*

Книга издана при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований

Функциональные системы организма в норме и при патологии :
Ф94 сб. науч. тр. / под ред. В. С. Улащика, А. Г. Чумака. – Минск : РИВШ,
2008. – 454 с.

ISBN 978-985-500-226-1.

Настоящее издание посвящено памяти академика Валерия Николаевича Гурина. Содержит оригинальные и важные материалы по проблемам регуляции функций, полученные физиологами и клиницистами Беларуси, России, Украины и дальнего зарубежья.

Рассчитано на широкий круг медиков и биологов, интересующихся вопросами организации и регуляции процессов жизнедеятельности.

УДК 612.8.04:612.015 (082)

ББК 28.707.3

ISBN 978-985-500-226-1

© Институт физиологии НАН Беларуси, 2008

© Оформление. ГУО «Республиканский институт
высшей школы», 2008

ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДОНОРОВ И ЛИЦ С БРОНХО-ЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

*В. Н. Никандров¹, О. Н. Жук¹, Е. И. Вашкевич¹,
Н. С. Пыжова³, И. М. Лантева²*

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²НИИ пульмонологии и фтизиатрии Минздрава Республики
Беларусь, Минск, Беларусь

³НИИ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики
Беларусь, Минск, Беларусь

Протеолиз – один из универсальных процессов живой природы, происходящий во всех организмах с той или иной степенью интенсивности. Протеолитические энзимы, обладающие высокой биологической активностью, представляют потенциальную опасность для большинства белковых структур тканей. Поэтому их активность в организме регулируется несколькими путями – пространственной разобщенностью энзима и субстрата, синтезом большинства протеиназ в форме неактивных предшественников, а также наличием специфических белков-ингибиторов, связывающих протеиназы, лишая их полностью или частично каталитической активности [1]. Важную роль в организме животных и человека играют химотрипсин, трипсин, эластаза, тромбин, плазмин, объединенные в группу (химо)трипсиноподобных протеиназ. В норме существует динамическое равновесие между трипсиноподобными протеиназами и их основными ингибиторами – α_1 -ингибитором протеиназы (α_1 -ИП) и α_2 -макроглобулином (α_2 -МГ), а дисбаланс между ними может привести к изменению гомеостаза и вызвать дезинтеграцию в разных функциональных звеньях. Избыточная активация ТпА, а также недостаточная ингибиторная активность плазмы крови являются важным патогенетическим звеном в развитии ряда деструктивных и воспалительных реакций организма, в том числе бронхо-легочных заболеваний, представляющих серьезную проблему для Республики Беларусь.

Материалы и методы. Объектом исследования явились образцы плазмы крови доноров и больных бронхо-легочными заболеваниями (хронической обструктивной болезнью легких – ХОБЛ,

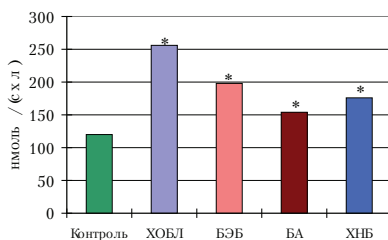
хроническим необструктивным бронхитом – ХНБ, бронхоэктатической болезнью – БЭБ и бронхиальной астмой – БА), в которых комплексным методом [2] определяли активности трипсиноподобных протеиназ (ТпА) и их ингибиторов – α_1 -ИП и α_2 -МГ, а также протеолитическую активность методом лизиса белков-субстратов в тонком слое агарового геля [3]. Полученные результаты обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики. Показатель достоверности определяли с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что по сравнению с плазмой крови, полученной от доноров (контроль), ТпА была повышена в плазме крови пациентов при всех исследуемых формах бронхо-легочной патологии. При хронической обструктивной болезни легких увеличение составило 112%; при хроническом необструктивном бронхите – 46,7%; при бронхоэктатической болезни – 65%; при бронхиальной астме – 27,5%; следовательно, наибольшая активность трипсиноподобных протеиназ характерна для ХОБЛ, наименьшая – для бронхиальной астмы (рис. 1).

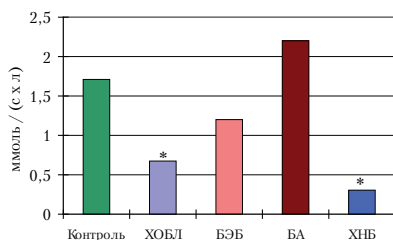
Что касается активности ингибиторов трипсиноподобных протеиназ, картина несколько иная (рис. 1). Наибольшее угнетение активности, как α_1 -ИП, так и α_2 -МГ, наблюдалось при ХНБ – на 83% и 49% соответственно. Снижение ингибиторной активности при ХОБЛ было менее выраженным и составило для α_1 -ИП 61% и α_2 -МГ 29%. Отмечена тенденция к уменьшению ингибиторной активности плазмы и при БЭБ – на 25-30%, однако изменения не были статистически достоверными. При БА α_1 -ИП-активность даже возрастала на 28%. Выявленные факты указывают на зависимость между ТпА и уровнем активности белков-ингибиторов, в силу которой при почти полном истощении активности α_1 -ингибитора протеиназ общая трипсиноподобная активность плазмы крови нарастает. Вместе с тем при ХНБ, когда наблюдается почти полное угнетение активности ингибиторов, повышение ТпА не является резко выраженным.

Полученные результаты свидетельствуют, что состояние исследуемых показателей может явиться определяющим при прогнозировании развития хронических заболеваний легких, особенно ХНБ. Однако эти факты также дают основание полагать, что на самом деле уровень протеолитической активности плазмы контролируется более сложным механизмом, чем уровень активности

ТпА



ИП



α_2 -МГ

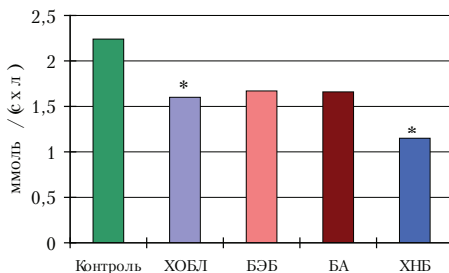


Рис. 1. Изменение активности ТпА, ИП и α_2 -МГ при разных формах легочной патологии.

*Звездочкой обозначены достоверные отличия от контроля

двух белков-ингибиторов. В силу этих обстоятельств целесообразным подходом является изучение в качестве своего рода интегрального показателя протеолитической активности плазмы крови по белковому субстрату, а также изменения ее при добавлении *in vitro* ионов Ca^{2+} и АТФ в качестве зондов.

Методом лизиса желатина в тонком слое агарового геля показаны отличия эффекта ионов Ca^{2+} и АТФ на желатинолитическую активность плазмы крови больных в сравнении с донорской.

Добавки Ca^{2+} (10^{-6} - 10^{-3} М) к плазме крови доноров позволили выявить изменение желатинолитической активности четырех типов: 1 (3 образца) – активность возрастала во всем диапазоне концентраций Ca^{2+} на 20–40%; 2 (6 образцов) – активность угнеталась при максимальной концентрации ионов на 60%; 3 (4 образца) – активность плазмы возрастала на 40% при более низких концентрациях ионов, но угнеталась на 20% при 10^{-3} М; 4 (2 образца) – желатинолитическая активность угнеталась на 20% в диапазоне концентраций Ca^{2+} 10^{-6} - 10^{-5} М, возросла на 40% при концентрации 10^{-4} М и угнеталась на 70% при максимальной концентрации (Рис.2). При исследовании плазмы крови больных бронхо-легочными заболеваниями ни в одном случае из 9 не наблюдали увеличения желатинолитической активности. Как правило, с увеличением концентрации Ca^{2+} она угнеталась. Однако прослеживалась зависимость трех видов: А (6 образцов) – активность угнеталась в диапазоне концентраций 10^{-5} - 10^{-3} М Ca^{2+} на 20–30%; В (2 образца) – угнетение наблюдалось на 20-45% во всем концентрационном диапазоне; С (1 образец) – желатинолитическая активность плазмы крови подавлялась на 22–33% в диапазоне концентраций 10^{-5} - 10^{-3} М, однако зависимость отличалась от типа А. Здесь следует отметить, что изменения типа 2 желатинолитической активности плазмы крови доноров напоминают таковые типа В больных. Этот аспект нуждается в дальнейшем изучении.

Что касается реакции желатинолитической активности плазмы крови на добавки АТФ, то в экспериментах с донорской плазмой наблюдали три типа зависимости: I – увеличение активности на 50% при концентрации АТФ 10^{-5} М и угнетение на 50% при максимальной концентрации нуклеотида; II – увеличение активности на 42–70% во всем концентрационном диапазоне; III – снижение активности на 30–50% при концентрации АТФ 10^{-4} - 10^{-3} М. Изменения же желатинолитической активности плазмы крови больных не превышали 10–30% во всем диапазоне концентраций нуклеотида.

Сопоставление характера влияния Ca^{2+} и АТФ на желатинолитическую активность плазмы крови доноров и больных бронхо-

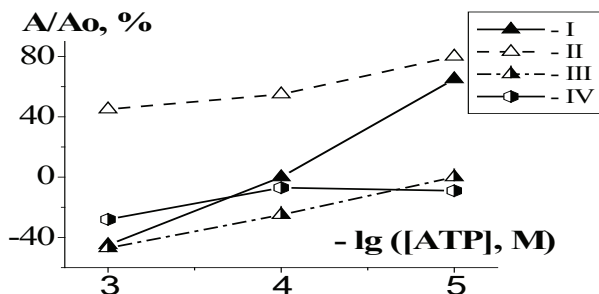
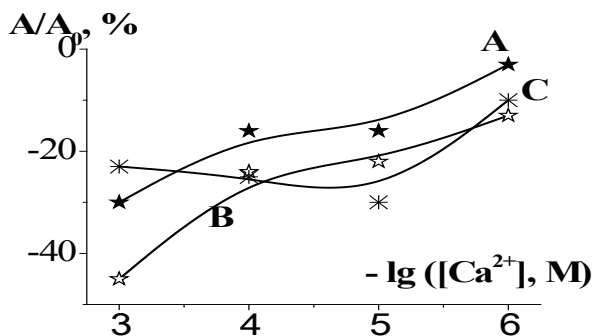
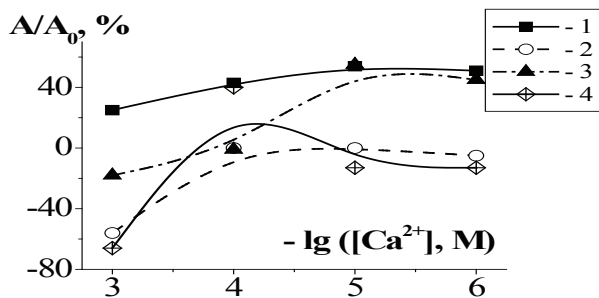


Рис. 2. Изменения желатинолитической активности плазмы крови при добавлении Ca^{2+} : доноров ($n=15$): типы 1, 2, 3, 4; пациентов ($n=9$) с бронхо-легочными заболеваниями: типы А, В, С или АТФ: доноров (типы I, II, III) и плазмы крови больных бронхо-легочными заболеваниями (IV)

легочными заболеваниями наводит на мысль либо о нескольких типах «организации» протеолиза у клинически здоровых людей, либо о наличии у части из них скрытых отклонений от нормы, не выявляемых при обычном лабораторном исследовании. Кроме того, картина влияния Ca^{2+} и АТР на желатинолитическую активность плазмы крови демонстрирует сложность ее регуляции, которая, вместе с тем, не исчерпывается лишь участием двух упомянутых метаболитов.

Учитывая, что нарушения функционирования протеолитического звена вызывают или сопровождают развитие целого ряда патологических процессов, совершенствование ранней и дифференциальной диагностики заболеваний, обоснование рациональных приемов патогенетической терапии возможны только при условии раскрытия новых закономерностей регуляции протеолиза на молекулярном и клеточном уровне. В связи с этим исследование состояния протеолитической составляющей крови, в частности трипсиноподобных протеиназ и их ингибиторов, общей протеолитической активности крови больных бронхо-легочными заболеваниями несомненно может иметь как диагностическое, так и прогностическое значение.

Список литературы

1. *Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И.* Протеолиз в норме и при патологии. – Киев, 1988.
2. *Карягина И. Ю., Зарембский Р. А., Баябина М. Д.* // Лаб. дело. – 1990. – № 2. – С. 10-13.
3. *Никандров В. Н., Пыжова Н. С., Шапчиц Н. С.* // Докл. НАН Беларуси. 2007. – Т. 51, № 2. – С. 57–60.