

© Е. В. Олемпиева, 2013
УДК 616.12-008.331.1-07-055.2:618.2

Е. В. Олемпиева

докт. мед. наук

Медико-санитарная часть УФСБ России по Ростовской области, Ростов-на-Дону

Изменение компонентов межклеточного матрикса при гипертонической болезни у беременных и небеременных женщин

Проведено клиничко-лабораторное исследование сыворотки крови у 115 пациенток 28–42 лет с сердечно-сосудистой патологией для выяснения роли ферментов гранулоцитов крови и компонентов межклеточного матрикса в механизмах развития гипертонического синдрома у беременных и небеременных. Установлено, что у пациенток с сердечно-сосудистой патологией отмечается увеличение активности миелопероксидазы на фоне нарушения структуры коллагеновых волокон. Предложен оксипролиновый коэффициент для диагностики деструктивных изменений компонентов межклеточного матрикса.

Ключевые слова: оксипролин, гранулоцитарная эластаза, сердечно-сосудистая патология

Заболевания сердечно-сосудистой системы стабильно на протяжении многих лет занимают ведущее место в структуре заболеваемости и смертности во всех развитых странах мира [1–3]. В последние годы значительно возрос интерес к изучению содержания свободного и связанного оксипролина в разных тканях и биологических жидкостях организма в норме и при патологических состояниях (острая и хроническая пневмония, туберкулез легких, дисплазия соединительной ткани, врожденные и наследственные заболевания почек и другие).

Оксипролин — структурный компонент соединительной ткани, встречающийся в коллагене (10–15 %) и в небольшом количестве в эластине (1,5–2 %), является специфической маркерной меткой коллагена, по которой судят о скорости катаболизма коллагена. Коллаген — основной структурный белок межклеточного матрикса, объединяющий семейство близкородственных фибриллярных белков, которые являются основным белковым элементом кожи, костей, сухожилий, хряща и кровеносных сосудов. При нарушении катаболизма оксипролина,

причиной которого обычно выступает дефект фермента гидроксипролиноксидазы, выделение оксипролина с мочой может превышать 1 г/сут.

Известно, что содержание оксипролина в крови не зависит от возраста, для экскреции же оксипролина с мочой характерны возрастные изменения. В крови оксипролин может находиться в свободном, пептидно- и белково-связанном виде. Две первые формы считаются показателями метаболизма коллагена. Однако литературные данные о содержании фракций оксипролина варьируют в широких пределах. Так, ряд авторов [4] выявили в крови практически здоровых людей преобладание белково-связанного оксипролина над пептидно-связанным и свободным. В работе П. Н. Шараева и соавт. [5] установлены иные соотношения — преобладание пептидно-связанного оксипролина над свободным и белково-связанным.

Очевидно, что дезинтеграция эластина и разрушение коллагено-полисахаридных комплексов, а также коллагеновых волокон соединительной ткани способствуют изменению концентрации этой маркерной аминокислоты как свободной, так связанной ее фракции. Учитывая сказанное, можно предположить, что по изменению содержания свободного и связанного оксипролина можно судить о деструктивных изменениях, возникающих в соединительной ткани кровеносных сосудов.

Елена Владимировна Олемпиева
e-mail: olempieva@yandex.ru

Однако в доступной литературе имеются единичные работы о содержании этой аминокислоты в сыворотке крови при гипертонической болезни. Тесным образом с метаболизмом межклеточного матрикса связана эластаза нейтрофилов. В частности, попадая во внеклеточное пространство, гранулоцитарная эластаза расщепляет основное вещество соединительной ткани, эластиновые и коллагеновые волокна базальных мембран, а также белки плазмы крови [6–8]. Так как оксипролин является маркерной аминокислотой распада компонентов соединительной ткани, то по изменению концентрации свободного оксипролина можно судить о деструктивных изменениях, возникающих в соединительной ткани кровеносных сосудов и сердца.

Целью данного исследования явилась оценка содержания компонентов межклеточного матрикса в крови у беременных и небеременных женщин при гипертонической болезни, а также установление роли лейкоцитарных ферментов в развитии заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Материалы и методы

Проведено клинико-лабораторное обследование 115 пациенток 28–42 лет с кардиоваскулярной патологией, длительность заболевания не превышала 5 лет. Диагноз установлен на основании анамнеза заболевания, клинических данных, результатов ЭКГ и УЗИ, а также результатов лабораторного исследования согласно рекомендациям ВНОК. Группы обследованных были сформированы согласно правилам проведения клинических исследований после получения от них информированного согласия. По характеру течения основного заболевания нами выделено две группы пациенток: 1-я — 35 пациенток репродуктивного возраста с гипертонической болезнью (ГБ) I стадии I степени; 2-я — 45 беременных пациенток с верифицированной ГБ I стадии I степени; контрольная группа — 35 практически здоровых пациенток без признаков сердечно-сосудистой патологии.

Материалом для исследования выбрана плазма и сыворотка венозной крови, взятой натощак из кубитальной вены. Содержание свободного и пептидно-связанного оксипролина определяли по методу Т. П. Кузнецовой [9]. Активность лейкоцитарной эластазы определяли по скорости гидролиза *N*-тетра-бутокси-карбонил-аланин-*p*-нитрофенилового эфира (*BOC-Ala-ONp*) методом, описанным В. Л. Доценко [10]. Активность миелопероксидазы лейкоцитов

определяли по методу Klebanoff, описанному М. Г. Шафран и С. Н. Лызловой [11]. Кроме того, оценивали концентрацию восстановленного глутатиона по методу G. L. Ellman [12] и внеэритроцитарного гемоглобина плазмы крови по методу, описанному А. В. Каракшевым и В. П. Вечевым [13].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили согласно общепринятым методам с определением средней арифметической, ошибки средней и использованием программы Stadia версия 6.0 [14]. О достоверности показателей контрольной и клинических групп судили по величине *t*-критерия Стьюдента после проверки на нормальность. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Принимая во внимание литературные данные о роли лейкоцитов в качестве факторов повреждения миокарда и сосудов при ГБ [1], становится необходимой оценка вклада протеолитических ферментов гранулоцитов крови в патогенезе ГБ. В ходе работы зарегистрирована незначительная активация гранулоцитарной эластазы сыворотки крови у пациенток 1-й группы на 8,1% относительно контрольной группы (таблица). При этом отмечали более значимый рост миелопероксидазной активности на 114,1% ($p < 0,05$) относительно контрольной группы (см. таблицу). Полученные данные убедительно свидетельствуют о том, что даже на начальной стадии развития кардиоваскулярной патологии имеет место рост функциональной активности лейкоцитов крови.

У данной группы пациенток отмечено достоверное повышение уровня внеэритроцитарного гемоглобина на 51,7% ($p < 0,05$), что свидетельствует о высокой прооксидантной способности плазмы крови. При этом имеет место достоверное снижение концентрации восстановленного глутатиона на 43,3% ($p < 0,05$) относительно контрольной группы, что говорит об усилении процессов детоксикации в условиях окислительного стресса у пациенток с начальной стадией ГБ (см. таблицу).

В ходе исследования у пациенток 1-й группы отмечали статистически достоверный рост концентрации свободного оксипролина сыворотки крови на 53,7% ($p < 0,05$) на фоне отсутствия статистически значимых отличий концентрации пептидно-связанного оксипролина относительно контрольной группы (см. таблицу). Данные

Содержание фракций оксипролина, внеэритроцитарного гемоглобина, восстановленного глутатиона и изменение активности лейкоцитарных ферментов в норме и при артериальной гипертензии у обследуемых всех групп, $M \pm X$

Анализируемый параметр	Контрольная группа, n=35	1-я группа, n=35	2-я группа, n=45
Оксипролин свободный, мкг/мл	9,59±0,083	14,74±0,71, $p < 0,05$	17,83±1,22 $p < 0,05$
Оксипролин связанный, мкг/мл	0,314±0,028	0,320±0,025 $p < 0,05$	0,445±0,027 $p < 0,05$
Оксипролиновый коэффициент	7,89±0,312	46,06±3,22 $p < 0,05$	40,07±3,61 $p < 0,05$
Гранулоцитарная эластаза, нмБАНЭ/мин на мл	195,5±12,76	211,4±18,21 $p > 0,05$	220,9±18,29 $p < 0,05$
Миелопероксидаза, мкмоль/г белка	11,63±0,461	24,9±1,27 $p < 0,05$	110,8±8,47 $p < 0,005$
Восстановленный глутатион, мкмоль/г	5,82±0,349	3,30±0,29 $p < 0,05$	10,0±0,231 $p < 0,05$
Внеэритроцитарный гемоглобин, мМоль/л	29,4±1,13	44,6±1,56 $p < 0,05$	58,2±2,82 $p < 0,05$

нарушения в изменении содержания свободного оксипролина свидетельствуют об усилении процессов распада коллагеновых волокон сосудистой стенки. Учитывая биохимические особенности процессов синтеза и созревания коллагеновых волокон, можно предположить, что у данных пациенток имеет место нарушение структуры самого коллагена на уровне посттрансляционных модификаций при гидроксилации пролина. Принимая во внимание полученные данные о достоверном увеличении концентрации внеэритроцитарного гемоглобина при синхронном снижении концентрации восстановленного глутатиона, можно полагать, что угнетается активность гидроксилазы пролина из-за нарушения восстановления дегидроаскорбиновой кислоты, обеспечивающей сохранение железа в ферроформе.

Для оценки степени деструкции компонентов соединительной ткани мы предлагаем ввести оксипролиновый коэффициент (Окс К) — отношение концентрации свободного оксипролина (мкг/мл) к концентрации его пептидно-связанной фракции. Рассчитав данный показатель, мы обнаружили, что имеет место статистически достоверный его рост у пациенток репродуктивного возраста с начальной стадией развития ГБ на 50,8 % ($p < 0,05$), см. таблицу.

Проведенное исследование также выявило наличие деструктивных изменений компонентов соединительной ткани и у беременных с ГБ 2-й группы. Доказательством выраженности деструктивных процессов у женщин с осложненным течением беременности является рост функциональной активности гранулоцитов кро-

ви и усиление их дегрануляции, что проявляется активацией лейкоцитарных протеиназ, в частности миелопероксидазы на 952,7 % ($p < 0,001$), см. таблицу. Что касается активности гранулоцитарной эластазы, то она незначительно статистически достоверно превышает значения у женщин контрольной группы на 17,5 % ($p < 0,05$). Однако даже в небольшом количестве этот энзим обладает мощным деструктивным действием, в том числе и на компоненты соединительной ткани. Такое предположение документируется выраженным статистически достоверным ростом как свободного, так и пептидно-связанного оксипролина на 85,9 % ($p < 0,05$) и 41,7 % ($p < 0,05$), соответственно.

Необходимо отметить, что только в этой клинической группе отмечали максимальное увеличение концентрации свободного оксипролина. Очевидно, это обусловлено усиленным распадом коллагена как за счет сериновых протеиназ, так и за счет избытка продукции активных форм кислорода. Так, зарегистрирован статистически достоверный рост концентрации внеэритроцитарного гемоглобина на 141,9 % ($p < 0,05$) относительно контрольной группы. Данное предположение документируется статистически значимым ростом оксипролинового коэффициента относительно контрольной группы на 31,2 % ($p < 0,05$). Необходимо указать, что группу обследуемых составили женщины со сроком беременности 38–42 нед. Можно полагать, что процесс распада коллагеновых фибрилл является необходимым условием для подготовки беременной женщины к послеродовой инволюции матки.

Заключение

Таким образом, начальная стадия развития гипертензионного синдрома сопровождается ростом функциональной активности гранулоцитов крови, более значимое у женщин с осложненным течением беременности. Кроме того, рост концентрации фракции свободного оксипролина в сыворотке крови у пациенток 1-й группы является свидетельством нарушений процессов синтеза самого коллагена и может служить биохимическим критерием выраженности деструктивных изменений в структуре соедини-

тельной ткани сосудистой стенки, что нарушает работу всей сердечно-сосудистой системы и является дополнительным патогенетическим фактором развития гипертензионного синдрома. Рост концентрации свободного и пептидно-связанного оксипролина у пациенток 2-й группы, по-видимому, отражает процессы подготовки беременной женщины к родовому акту.

Очевидно, что предложенный оксипролиновый коэффициент может быть использован для диагностики деструктивных изменений соединительной ткани у пациентов с начальной стадией кардиоваскулярной патологии.

Литература

1. Шляхто Е.В. Реологические свойства крови и функция эндотелия у больных гипертонической болезнью // Кардиология. 2004. Т. 44. № 4. С. 20–23.
2. Girnd J. Hypertonie in Schwangerschaft und Wochenbett // Münch. med. Wschr. 1990. Bd. 131. S. 879–882.
3. Grigoricheva E. A. Prognosis of total cardiovascular complications in patients with arterial hypertension of the I-II stages // Kazan. Med. J. 2008. Vol. 1. P. 11–15.
4. Григорян В. Г., Полинковский В. И., Брадиштяну К. Я. Определение оксипролина в сыворотке крови у больных туберкулезом легких // Пробл. туб. 1980. № 12. С. 42–46.
5. Шараев П. Н., Ботникова Е. А., Иванов В. М. Определение свободного и связанного оксипролина в моче // Лаб. 1990. № 12. С. 23–24.
6. Доценко В. Л., Нешкова Е. А., Яровая Г. А. Выявление лейкоцитарной эластазы человека из комплекса с плазменным α 1-протеиназным ингибитором по ее энзиматической активности с синтетическим субстратом // Вопр. мед. химии. 1994. Т. 40. № 3. С. 20–25.
7. Доценко В. Л. Действие лейкоцитарной эластазы на высокомолекулярный кининоген плазмы крови человека в присутствии альфа-1-притеинкиназного ингибитора. Анализ протеолитической деградации // Вопр. мед. химии. 2001. Т. 47. № 1. С. 55–71.
8. Travis J. Human leukocyte elastase and cathepsin G: structure and functional characteristics // Excerpta Med. 1980. Vol. 233. P. 51–68.
9. Кузнецова М. П., Прошина Л. Я., Приваленко М. Н. Модификация определения содержания оксипролина в сыворотке крови // Лаб. дело. 1982. № 8. С. 8–10.
10. Доценко В. Л., Нешкова Е. А., Блохина Т. Б. Перспективы определения гранулоцитарной эластазы как высокоинформативного диагностического и прогностического показателя при неотложных состояниях и заболеваниях воспалительного характера // Клин. лаб. диагностика. 1999. № 11. С. 32.
11. Шафран М. Г., Лызлова С. Н. Очистка и некоторые свойства миелопероксидазы лейкоцитов белых мышей // Вопр. мед. химии. 1975. № 6. С. 629–633.
12. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. 1959. Vol. 82. P. 70–77.
13. Каракшев А. В., Вячев Е. П. Микрометоды в клинической лаборатории. София, 1973.
14. Кулайчев А. П. Методы и средства анализа данных в среде Windows Stadia 6.0. М., 1996.

E. V. Olempieva

Medical Military Hospital, Federal Security Service, Rostov-on-Don

Changes of components of extracellular matrix at hypertonic disease in pregnant and nonpregnant women

It was investigated 115 samples of blood serum of female patients in the age from 28 to 42 to estimate the role of enzymes of blood granulocytes and components of extracellular matrix in hypertonic syndrome in pregnant and nonpregnant women. It was revealed that patients with cardiovascular pathology have had the elevation of Myeloperoxidase activity in combination with affection of collagen fibers structure. Oxypoline coefficient was suggested for diagnostic of destructive changes of extracellular matrix components.

Key words: *oxypoline, granulocyte elastase, cardiovascular pathology*