

КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК: 577.15.08; 577.15.156; 616.24-002; 616.24.248; 616.12-008.331.1; 616.12-008.331.4.

© Коллектив авторов

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА ПРИ ПНЕВМОНИИ И ХРОНИЧЕСКИХ ОБСТРУКТИВНЫХ БОЛЕЗНЯХ ЛЕГКИХ.

*Б.Ю.Альтишулер¹, А.П.Ройтман², Т.А.Федорова³, Г.А.Яровая², Е.А.Нешкова²,
В.Г.Новоженков⁴, С.А.Белков⁴.*

¹Центральная клиническая больница им. Н.А. Семашко МПС России, 129128, г. Москва,
ул. Будайская д.2, тел: (095) 187-06-38, факс: 181-24-52;

²Российская медицинская академия последиplomного образования;

³Кафедра терапии ФППО Московской Медицинской Академии им. И.М. Сеченова,
тел: (095) 945-47-32;

⁴Кафедра военно-полевой терапии Государственного института усовершенствования
врачей МО РФ, 111020, г. Москва, Госпитальная площадь, д.2, тел: (095) 263-25-38,
тел/факс: 263-02-64.;

У 69 больных пневмониями и 77 больных хроническими обструктивными болезнями легких (ХОБЛ) определена активность ангиотензинпревращающего фермента в сыворотке крови и бронхоальвеолярном содержимом (БАС). Установлено, что у больных пневмонией в острой фазе заболевания активность АПФ снижена как в крови, так и в БАС. По мере разрешения воспалительного процесса происходит восстановление активности АПФ до нормальных величин. У больных ХОБЛ активность АПФ на стадии ремиссии изначально снижена по сравнению со средним для популяции значением. При обострении ХОБЛ активность АПФ в крови и БАС повышается. Изменения активности АПФ при пневмониях и ХОБЛ более выражены в БАС чем в крови. Предполагается, что наиболее вероятной причиной изменения активности АПФ в сыворотке крови и БАС у больных пневмонией и ХОБЛ является изменение концентрации фермента.

Ключевые слова: Ангиотензинпревращающий фермент, ХОБЛ, пневмония, гипотензия, гипертензия, лейкоцитарная эластаза, цинк, ингибиторы.

ВВЕДЕНИЕ. Острые и хронические заболевания легких занимают одно из важнейших мест в клинике внутренних болезней. При этом, недостаточно ясно как отражается течение болезни на продукции легочной тканью некоторых важнейших гуморальных регуляторов [1]. Одновременно обращает на себя внимание отсутствие в клинической практике биохимических методов объективного лабораторного контроля за состоянием легочной паренхимы [2]. Как нам представляется, обе эти проблемы тесно смыкаются друг с другом, поскольку физиологически активные вещества, синтез которых обеспечивается преимущественно легочной тканью, одновременно могут служить маркерами ее морфофункциональной сохранности. Непременным условием для практического использования таких маркеров в клинической лабораторной диагностике является доступность методов их определения.

Нами исследовалась активность ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) при пневмониях и хронических обструктивных болезнях легких (ХОБЛ). Анализировался ряд сопутствующих факторов, которые могли стать причиной изменения активности АПФ. Такое направление исследования было продиктовано следующими предпосылками.

Известно, что основная локализация АПФ - эндотелий сосудистой стенки [1,3]. Будучи обильно васкуляризованными, легкие характеризуются огромной площадью эндотелиальной поверхности. Поэтому, легочная ткань содержит во много раз больше АПФ, чем другие органы [3]. Многочисленными исследованиями установлено, что именно легкие служат основным источником АПФ в организме человека [1].

Таким образом, можно рассматривать АПФ как органоспецифичный фермент, активность которого в сыворотке крови определяется состоянием синтетической функции или структурной целостностью продуцирующего органа. Как нам представляется, изучение проблемы именно под таким углом зрения позволит наиболее объективно оценить диагностическую значимость этого анализата для клинической пульмонологии.

К настоящему времени накоплено достаточно много данных об изменениях активности АПФ в сыворотке крови при различных заболеваниях [4,5]. Все отечественные и зарубежные исследователи констатируют повышение его активности в крови при прогрессировании саркоидоза [5-7] и туберкулезе [7,8]. Уровень АПФ повышается у больных силикозом и другими пневмокониозами, гиперчувствительным пневмонитом, фиброзирующим альвеолитом, лимфолейоангио-миоматозом, шистосомозом, ревматоидным артритом, шейным лимфаденитом, системными коллагенозами, болезнью Гоше, болезнью Шенлейна-Геноха, нелеченным гипертиреозом, грибковыми заболеваниями, биллиарным циррозом, гистiocитозом-Х, лимфомой Леннерта [4,5]. Имеются сведения о возможности повышения активности АПФ сыворотки при заболеваниях, приводящих к повреждению эндотелия сосудов [3,7].

Снижение активности АПФ сыворотки отмечается при муковисцидозе, иммунодефицитных состояниях, терминальной стадии рака легкого и острой гипоксии [5,6]. Есть неподтвержденные пока данные о значительном (2-3-кратном) снижении активности сывороточного АПФ у больных лепрой [7].

Несмотря на кажущуюся изученность проблемы, в литературе практически отсутствуют публикации, посвященные определению активности АПФ при острых пневмониях. Сведения, касающиеся изменения активности АПФ при ХОБЛ неполны и, зачастую, противоречивы [8-10].

АПФ связывает между собой ренин-ангиотензиновую и калликреин-кининовую системы, будучи центральным звеном регуляции артериального давления. Известно, что для острой пневмонии характерно снижение системного артериального давления [11]. При тяжелой форме заболевания падение артериального давления может быть весьма значительным, представляя угрозу для жизни больного. Вплоть до настоящего времени это объясняется развитием инфекционно-токсического шока. Клиническая картина ХОБЛ, напротив, сопровождается формированием т.н. "пульмогенной артериальной гипертензии", патогенез которой до сих пор остается неясным [12].

Нельзя исключать, что формирование как гипотензивных, так и гипертензивных состояний при этих нозологических формах может быть каким-то образом опосредовано нарушением синтетической функции легких.

МЕТОДИКА. Обследовано 69 больных пневмониями и 77 больных ХОБЛ с различными патоморфологическими изменениями и тяжестью клинического течения. Больные, у которых пневмонии развивались на фоне выраженных бронхообструктивных и эмфизематозных изменений, не включались в исследование. Всему контингенту проводили лабораторные биохимические и общеклинические анализы, рентгенологическое исследование грудной клетки и исследование функции внешнего дыхания.

Как правило, хронический бронхит и эмфизема легких развиваются параллельно, в той или иной степени сопутствуя друг другу. Бронхиальная астма, хотя и является самостоятельным заболеванием, в подавляющем числе случаев осложняется присоединением хронического бронхита, неизбежным развитием пневмосклероза и эмфиземы легких.

Поэтому, все больные ХОБЛ были разделены на три подгруппы. В первую подгруппу вошли больные с преобладанием в клинической картине эмфизематозного компонента - 24 человека. Вторая подгруппа состояла из больных с преобладанием в клинической картине бронхитического компонента - 31 человек. Третью подгруппу составили больные бронхиальной астмой вне зависимости от вызвавших ее этиологических факторов - 22 человека.

Больные пневмонией тоже были разделены на три подгруппы. В качестве основного дифференциального критерия была выбрана рентгенологическая распространенность морфологических изменений, которую условно оценивали по объему воспалительного инфильтрата на момент госпитализации. Первую подгруппу составили больные, у которых зона воспаления захватывала не более 2 сегментов в одном или обоих легких - 19 человек. Вторая подгруппа состояла из больных, у которых зона воспаления захватывала от 3 до 5 сегментов вне зависимости от их локализации - 33 человека. Третью подгруппу составили больные со сливной полисегментарной пневмонией - 17 человек.

Активность АПФ в сыворотке крови определяли сразу при поступлении, на 7-ой, 14-й и 21-й день. Одновременно с забором крови у больных ХОБЛ путем ингаляции гипертонического раствора NaCl получали индуцированную мокроту. Больным пневмонией сразу при поступлении и непосредственно перед выпиской из стационара выполняли фибробронхоскопию с получением бронхоальвеолярных смывов (БАС). Образцы БАС и мокроты центрифугировали при 4000g, после чего в супернатанте определяли активность АПФ и содержание общего белка.

Активность АПФ определяли на биохимическом автоанализаторе "COBAS MIRA PLUS" ("Hoffmann La Roche", Швейцария) оптимизированным фотометрическим методом [13] по кинетике гидролиза синтетического хромогенного субстрата N-[3-(2-фурил)акилоил]-L-фенилаланилглицилглицин (ФАПГГ). Спектрофлуориметрические [14,15] и радиоимунные [14] методы более дорогостоящие и трудоемкие, а альтернативные фотометрические [14,16,17], по нашему мнению, менее корректны.

Концентрацию общего белка в сыворотке крови определяли унифицированным биуретовым методом. Концентрацию общего белка в супернатанте бронхоальвеолярного содержимого определяли фотометрическим методом по реакции комплексообразования в кислой среде между аминокетонами белковых молекул и молибдатом пирогаллола (наборы фирмы "Bioson GmbH", Германия). Возрастание оптической плотности реакционной среды при 600 нм прямо пропорционально концентрации общего белка. Для калибровки использовали стандартный раствор человеческого альбумина с концентрацией 1 г/л.

Контрольная группа состояла из 52 практически здоровых мужчин и женщин в возрасте от 18 до 73 лет. В контрольной группе активность АПФ в сыворотке крови составила от 25,1 до 60,4 мкмоль /мин • л или 0,29-0,83 мкмоль/мин • г общего белка. Активность АПФ в сыворотке крови в контрольной группе была $42,0 \pm 1,15$ мкмоль/мин•л (n=52) или $0,56 \pm 0,02$ мкмоль/мин•г общего белка. Удельная активность АПФ в бронхоальвеолярном содержимом в контрольной группе была $2,03 \pm 0,08$ мкмоль/мин•г общего белка (n=28).

Активность АПФ измеряли при насыщающей концентрации ФАПГГ 1,6 мМ, смешивая сыворотку с реактивом в таком соотношении, чтобы ее доля в общем объеме пробы составляла соответственно 50%, 33,3%, 25%, 15%, 10%, 5%, 2% и 1%. В каждой пробе на линейном участке кинетической кривой определяли $\Delta\text{ОП}/\text{мин}$, после чего строили зависимость между скоростью реакции и содержанием сыворотки. Линеаризация этой зависимости служила критерием прекращения возможного действия эндогенных регуляторов. Изменение каталитической активности АПФ выражали в процентах. Фактическую активность АПФ определяли по нелинейной математической функции (метод Newton Rapson) [18], принимая за 100% ту, которая была рассчитана методом линейной регрессии. Соотношение линейной и нелинейной моделей позволило количественно оценить суммарное влияние эндогенных регуляторов на активность АПФ как *in vitro* (метод-зависимая величина), так и, условно, в плазме крови *in vivo*.

Структуру активного центра молекулы АПФ стабилизирует цинк. Известно, что в отсутствие катионов Zn^{2+} АПФ полностью теряет свою каталитическую активность [3]. Нормальная физиологическая концентрация цинка в сыворотке крови составляет 10,7-22,9 мкМ [5,19]. При некоторых заболеваниях содержание цинка в крови может меняться [5,19]. Так, например, развитие атеросклероза и гипертонической болезни сопровождается 5-10-кратным увеличением концентрации цинка в сыворотке крови по сравнению с нормальными значениями. Снижение концентрации цинка в крови отражает общий дефицит этого микроэлемента в организме [5].

Влияние цинка на активность АПФ изучали, варьируя концентрацию $ZnCl_2$ в рабочем реактиве. Концентрацию цинка в сыворотке крови определяли фотометрическим методом по реакции образования в щелочной среде окрашенного комплекса с Zn^{2+} 5-Br-PAPS (готовые наборы фирмы "Sentinel CH", Италия). Возрастание оптической плотности реакционной среды при 550-580 нм. прямо пропорционально концентрации цинка. Для калибровки использовали стандартный раствор с концентрацией Zn^{2+} -30,6 мкМ.

Одной из важнейших воспалительных реакций является дегрануляционная активность нейтрофилов. При высвобождении специфических азурофильных гранул из этих клеток в плазму крови попадает большое количество протеиназ с широкой субстратной специфичностью и оптимумом действия в нейтральной области pH [20]. Среди них наибольшими деструктивными возможностями обладает лейкоцитарная эластаза (ЛЭ). Установлено, что ЛЭ оказывает практически тотальное денатурирующее действие как на тканевые, так и на плазменные белки, разрушая факторы свертывания, фибринолиза, комплемента и калликреин-кининовой системы [20,21]. Таким образом, изменение активности АПФ в сыворотке крови или бронхоальвеолярном содержимом может быть связано с протеолитической деградацией.

Чтобы оценить влияние со стороны ЛЭ, ее добавляли к водному раствору АПФ в соотношении 1:4. В качестве источника АПФ использовали лиофилизированный препарат чистого АПФ, полученный из почек свиньи (пр-во фирмы "Sigma", США). Препарат чистой ЛЭ с активностью 39 мкмоль/мин·л был предоставлен кафедрой биохимии РМАПО. Активность лейкоцитарной эластазы тестировали спектрофотометрическим методом [20] по гидролизу N-терт-бутоксi-Ala-нитрофенилового эфира. При этом в опытной пробе создавалась свободная эластазная активность, которая наблюдается *in vivo* при выраженной воспалительной реакции [20]. В качестве контроля к раствору АПФ в том же соотношении добавляли 0,89% р-р NaCl. Опытную и контрольную пробы инкубировали при температуре 37°C в течение 3-х часов. Активность АПФ определяли сразу после внесения ЛЭ, а затем через каждые 30 минут.

РЕЗУЛЬТАТЫ. На момент госпитализации активность АПФ в сыворотке крови у больных ХОБЛ была достоверно ниже нормы - 33,3 мкмоль/мин·л ($P_{1 \rightarrow n} < 0,001$). После проведенных лечебных мероприятий отмечалось снижение активности АПФ - 26,0 мкмоль/мин·л ($P_{2 \rightarrow 1} < 0,01$) на 7-й день, $23,3 \pm 0,52$ мкмоль/мин·л ($P_{3 \rightarrow 2} < 0,05$) на 14-й день и $22,9 \pm 0,48$ мкмоль/мин·л ($P_{4 \rightarrow 3} > 0,1$ и $P_{4 \rightarrow n} < 0,001$) на 21-й день.

Удельная активность АПФ в бронхоальвеолярном содержимом больных ХОБЛ при поступлении в стационар составляла $1,41 \pm 0,05$ мкмоль/мин·г общего белка ($n=66$; $P_{1 \rightarrow n} < 0,01$). Через некоторое время внутрибронхиальная активность АПФ снижалась до $0,98 \pm 0,04$ мкмоль/мин·г общего белка ($n=63$; $P_{2 \rightarrow 1} < 0,01$) на 7-й день, $0,86 \pm 0,03$ мкмоль/мин·г общего белка ($n=63$; $P_{3 \rightarrow 2} < 0,05$) на 14-й день и $0,82$ мкмоль/мин·г общего белка ($P_{4 \rightarrow 3} > 0,1$ и $P_{4 \rightarrow n} < 0,001$) на 21-й день.

После разделения больных ХОБЛ на подгруппы было выявлено, что во всех 3-х подгруппах изменения активности АПФ в сыворотке крови и бронхиальном содержимом происходили синхронно и были однонаправленны. У всех больных изменения удельной активности АПФ в бронхиальном содержимом оказывались более выраженными, чем в крови.

У больных с преобладанием в клинической картине эмфизематозного компонента активность АПФ в сыворотке крови и бронхоальвеолярном содержимом при поступлении в стационар была наиболее низкой. В этой подгруппе отмечалось, также, и самое незначительное изменение активности АПФ.

У больных с преобладанием в клинической картине бронхитического компонента активность АПФ в сыворотке крови и бронхоальвеолярном содержимом при поступлении в стационар была самой высокой и практически не отличалась от нормальной. Изменение активности АПФ в этой подгруппе было больше, чем у больных с преобладанием эмфизематозного компонента, но меньше, чем при бронхиальной астме.

У больных бронхиальной астмой активность АПФ в сыворотке крови и бронхоальвеолярном содержимом при поступлении в стационар была промежуточной по сравнению с двумя предыдущими подгруппами. В этой подгруппе, однако, отмечалось самое выраженное изменение активности АПФ (рис. 1).

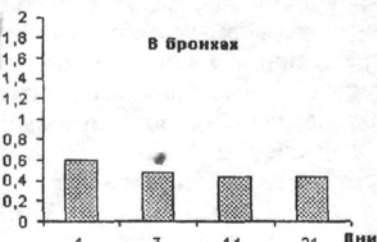
АПФ И БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

эмфизематозный тип

АПФ (мкмоль/мин-л)

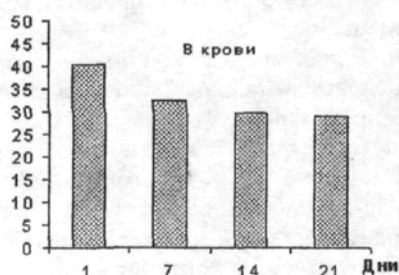


АПФ (мкмоль/мин-г)

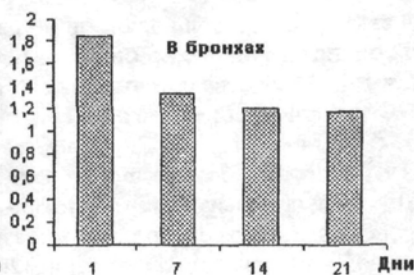


бронхитический тип

АПФ (мкмоль/мин-л)

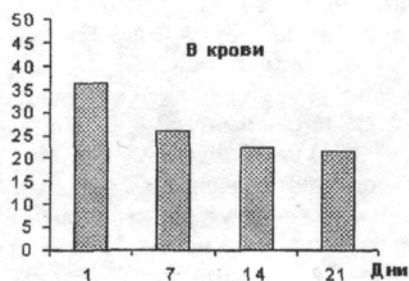


АПФ (мкмоль/мин-г)



бронхиальная астма

АПФ (мкмоль/мин-л)



АПФ (мкмоль/мин-г)

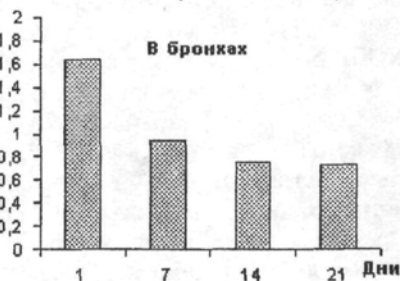


Рисунок 1

Изменение активности АПФ при ХОБЛ.

У больных пневмонией активность АПФ в сыворотке крови при госпитализации также была ниже нормы - $27,2 \pm 0,77$ мкмоль/мин-л ($P_{1 \rightarrow n} < 0,001$). На фоне стандартной курсовой терапии отмечалось повышение активности АПФ, наиболее заметное в первую неделю пребывания в стационаре - $34,5 \pm 0,94$ мкмоль/мин-л ($P_{2 \rightarrow 1} < 0,01$ и $P_{2 \rightarrow n} < 0,01$) на 7-й день, $38,6 \pm 0,99$ мкмоль/мин-л ($P_{3 \rightarrow 2} < 0,05$ и $P_{3 \rightarrow n} < 0,05$) на 14-й день и $40,4 \pm 1,25$ мкмоль/мин-л ($P_{4 \rightarrow 3} > 0,05$ и $P_{4 \rightarrow n} > 0,05$) на 21-й день.

Удельная активность АПФ в бронхоальвеолярном содержимом больных пневмонией при госпитализации составляла $0,46 \pm 0,02$ мкмоль/мин-г общего белка ($n=54$; $P_{1 \rightarrow n} < 0,001$). Накануне выписки из больницы после перенесенной пневмонии активность АПФ в бронхоальвеолярном содержимом этих больных составляла в среднем $1,58 \pm 0,04$ мкмоль/мин-г общего белка ($n=63$; $P_{2 \rightarrow 1} < 0,001$ и $P_{2 \rightarrow n} < 0,01$).

По мере разрешения воспалительного инфильтрата увеличение активности АПФ в сыворотке крови и бронхоальвеолярном содержимом наблюдалось у всех без исключения больных пневмонией. Самые выраженные изменения активности АПФ встречались при билатеральной и сливной полисегментарной пневмонии. У некоторых таких больных активность АПФ в острой фазе заболевания была многократно ниже, чем на момент клинического выздоровления.

После разделения больных пневмонией на подгруппы было выявлено что в первой подгруппе при госпитализации отмечалась самая высокая активность АПФ в сыворотке крови, а ее увеличение по мере клинического выздоровления было минимальным. В этой подгруппе происходило наибольшее возрастание активности АПФ в бронхоальвеолярном содержимом (рис. 2).

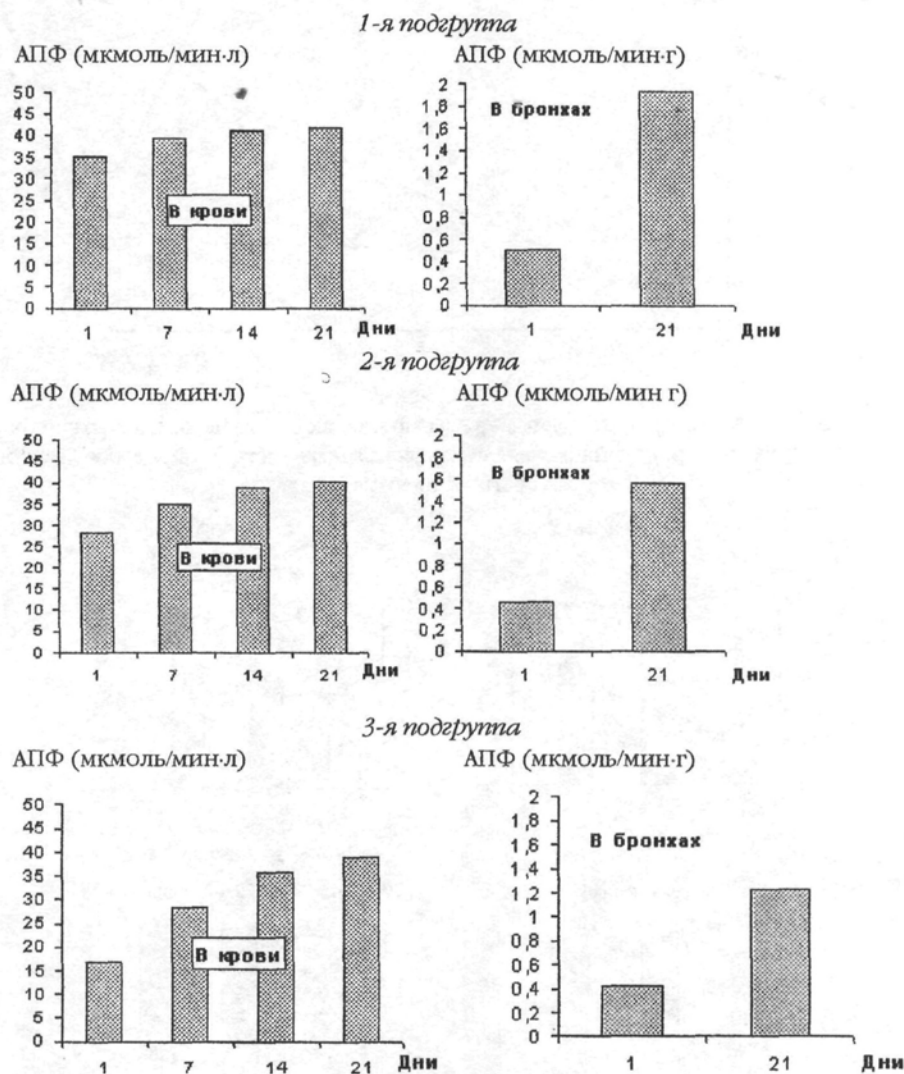


Рисунок 2
Изменение активности АПФ при пневмонии.

В третьей подгруппе при госпитализации отмечалась самая низкая активность АПФ в сыворотке крови, а ее увеличение по мере клинического выздоровления было максимальным. В этой подгруппе происходило наименьшее возрастание активности АПФ в бронхоальвеолярном содержимом.

Во второй подгруппе изменение активности АПФ было промежуточным по сравнению с первой и третьей подгруппами.

В остром периоде пневмонии наибольшее различие между подгруппами наблюдалось по активности АПФ в сыворотке крови, а наименьшее - в бронхоальвеолярном содержимом. На момент клинического выздоровления наибольшее различие между подгруппами, наоборот, наблюдалось по активности АПФ в бронхоальвеолярном содержимом, а наименьшее - в сыворотке крови (рис. 2).

Известно, что в сыворотке крови находятся вещества, способные подавлять активность АПФ. Эффект их присутствия наблюдался как в сыворотке больных, так и здоровых людей,

становясь пренебрежимо малым уже при 10-кратном разведении любого образца.

Аппроксимация зависимости между $\Delta\text{ОП}_{\text{пробы}}/\text{мин}$ и содержанием сыворотки в пробе лог-логарифмическим методом показывает, что у здоровых людей в нативной сыворотке крови активность АПФ составляет $\sim 37,5 \pm 0,62$ от той, которая теоретически достижима в водной среде (рис. 3).

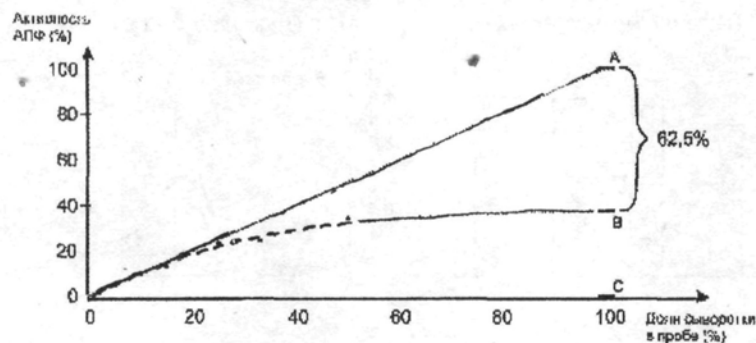


Рисунок 3

Зависимость активности АПФ от содержания сыворотки здорового человека в реакционной среде (пробе). Пунктирной линией показана фактическая активность АПФ в пробе, а сплошной — теоретически возможная.

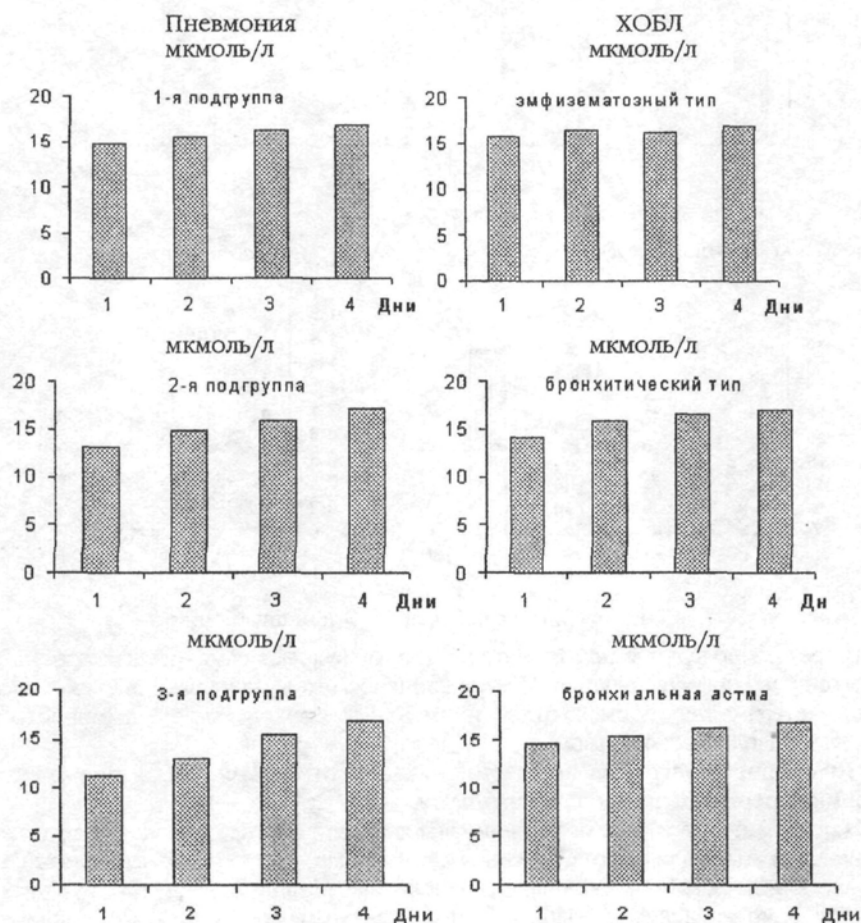


Рисунок 4

Изменение концентрации цинка у больных пневмонией и ХОБЛ.

По нашим данным *in vitro* зависимость активности АПФ от концентрации цинка имеет нелинейный характер. Учитывая содержание цинка в сыворотке крови больных пневмонией и ХОБЛ, наибольший интерес представляет изменение активности АПФ при концентрациях этого микроэлемента от 5 до 20 мкМ (рис. 5).

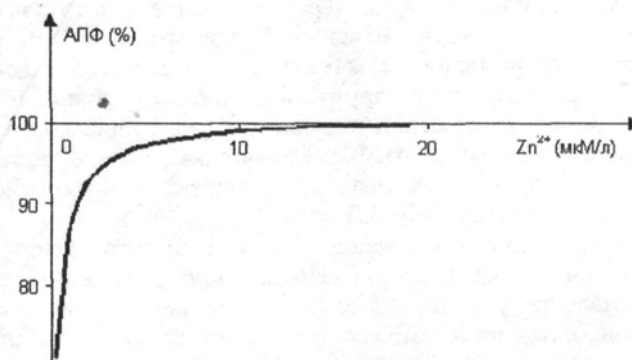


Рисунок 5

Изменение активности АПФ в зависимости от содержания Zn^{2+} в сыворотке крови.

Присутствие свободной ЛЭ не оказывало никакого влияния на каталитическую активность АПФ *in vitro*. Различия в скорости гидролиза ФАПГ между опытной и контрольной пробой при всех сделанных за три часа измерениях находились в пределах статистической погрешности.

ОБСУЖДЕНИЕ. У больных пневмонией повышение активности АПФ в сыворотке крови и бронхоальвеолярном содержимом происходило параллельно клиническому выздоровлению. Деление на подгруппы показывает, что изменение активности АПФ было тем более выражено, чем больший объем легочной ткани поражен воспалительным процессом. Так как у здоровых и лиц, перенесших пневмонию, уровень активности АПФ практически совпадает, можно сделать вывод, что выздоровление сопровождалось ее нормализацией. Окончательное восстановление ферментативной активности крови наступало уже после выписки из стационара.

Поскольку все образцы БАС получали из зоны воспалительного инфильтрата, изменение регионарной активности АПФ, очевидно, лимитировалось и состоянием гистогематического барьера. Маловероятно, что локальная фильтрация АПФ во внутриальвеолярное пространство могла стать причиной уменьшения его сывороточной активности. Будь это действительно так, динамика активности АПФ в сыворотке крови и бронхоальвеолярном содержимом оказалась бы разнонаправленной.

При ХОБЛ изменения активности АПФ в сыворотке крови и бронхоальвеолярном содержимом носили принципиально иной характер. Главное отличие от пневмонии заключалось в том, что на фоне лечебных мероприятий имело место еще большее уменьшение активности АПФ. Деление на подгруппы показывает, что активность АПФ в сыворотке крови и бронхоальвеолярном содержимом зависит от выраженности эмфизематозных изменений. В межприступный период самая низкая активность АПФ отмечалась у больных с эмфизематозным типом хронического бронхита и с бронхиальной астмой, осложненной хронической обструктивной эмфиземой легких. Самая высокая активность АПФ была свойственна больным с бронхитическим типом хронического бронхита, при котором эмфизематозное перерождение легочной ткани минимально.

Наибольшие изменения активности АПФ наблюдались у больных бронхиальной астмой, а наименьшие - у больных с эмфизематозным типом хронического бронхита. Следовательно, изменение активности АПФ определялось уже не столько морфологической картиной процесса, сколько наступающими патофизиологическими сдвигами. Это предположение объясняет параллелизм между изменением активности АПФ и клинической динамикой состояния больного.

Уменьшение концентрации цинка в плазме крови, безусловно, может повлиять на активность АПФ (рис. 5). Известно, что при острофазовой реакции концентрация цинка в

плазме крови снижается в результате его захвата печенью [22]. Кроме того из-за воспаления плазма крови хуже связывает и удерживает цинк. Последнее происходит потому, что в крови уменьшается концентрация альбумина, с которым в норме связано около половины всех ионов цинка [19,22].

Вместе с тем, ни пневмония, ни ХОБЛ не приводили к тотальному дефициту этого микроэлемента. У большинства больных концентрация цинка в сыворотке крови изменялась в границах физиологической нормы, что не могло существенно повлиять на активность АПФ. Предположение о цинк-зависимой регуляции не объясняет, почему при пневмонии стихание воспалительной реакции сопровождалось повышением, а при ХОБЛ, наоборот, снижением активности АПФ. Следовательно, изменение концентрации цинка в плазме крови или его суммарных запасов в организме не было основной причиной для наблюдаемой динамики активности АПФ.

На роль ингибиторов в регуляции артериального давления ранее уже обращали внимание Татаркина и др [9,10,11]. По мнению этих исследователей изменение артериального давления у легочных больных вызвано нарушением равновесия между ингибиторами и протеиназами, которые превращают неактивный ренин в активный.

Природа эндогенных ингибиторов активности ферментов АПФ и механизм их действия пока остаются неясными [8]. Гипотетически, одним из естественных ингибиторов АПФ в плазме крови может быть α_2 -макроглобулин. Как и многие другие эндопептидазы [5], молекулы АПФ, очевидно, сорбируются на поверхности α_2 -макроглобулина или стерически "окутываются" им, утрачивая при этом свою каталитическую активность. Взаимодействие этого белка с АПФ, вероятно, потенцирует цинк, в транспорте которого α_2 -макроглобулин играет важную роль [5].

Мы допускаем что ингибиторное влияние на АПФ в той или иной степени оказывает весь белково-пептидный матрикс плазмы крови, однако, использованная нами методика определения активности АПФ предусматривала 10-кратное разведение образца реактивом. Поэтому результаты измерений не зависели от влияния ингибиторов. Следовательно, динамика активности АПФ в сыворотке крови и бронхоальвеолярном содержимом у больных пневмонией и ХОБЛ была, по-видимому, .

Судя по всему, деградация АПФ протеазами острой фазы при пневмонии и ХОБЛ не значительна, или не происходит совсем. Это предположение согласуется с существующими представлениями о возможности влияния на АПФ протеолитических ферментов. Пространственная структура молекулы АПФ такова, что углеводные компоненты надежно защищают ее от протеолиза [3]. Трипсин, например, способен разрушать АПФ только после частичной денатурации.

Мы полагаем, что обнаруженные в данной работе явления, отражают изменение синтеза АПФ или его высвобождения в сосудистое русло. Это подтверждается тем, что относительные изменения активности АПФ более выражены в бронхоальвеолярном содержимом, чем в крови. Как очевидно, активность АПФ в бронхоальвеолярном содержимом в первую очередь определяется состоянием регионарного легочного эндотелия, тогда как активность АПФ в сыворотке крови зависит от функции всего сосудистого эндотелия организма.

В рамках этой рабочей гипотезы можно предположить, что у больных пневмонией нарушение синтеза АПФ происходит локально и носит обратимый характер. По всей видимости, фермента синтезируется тем меньше, чем больший объем легочной ткани оказывается поражен воспалением. Динамика активности АПФ у больных пневмонией свидетельствует, что этот фермент в первую очередь отражает именно синтетическую функцию легочного эндотелия, а не проявления цитолитического синдрома. В противном случае у больных пневмонией должно было бы наблюдаться повышение активности АПФ тем большее, чем больший объем легочной ткани захвачен воспалительным инфильтратом.

По мере разрешения воспалительного инфильтрата, количество функционально полноценных эндотелиальных клеток постепенно увеличивается, возвращаясь к исходной норме. Как следствие, восстанавливается и синтетическая функция легочного эндотелия. Тот момент, когда после перенесенной пневмонии активность АПФ в сыворотке крови перестает увеличиваться и становится более менее постоянной, указывает на

восстановление нормальной метаболической активности легких.

Это позволяет объяснить, почему в остром периоде пневмонии наибольшие различия между подгруппами наблюдались в сыворотке крови, а не в бронхиальном содержимом. Поскольку БАС всегда получали из очага поражения, удельная активность АПФ в этих смывах отражала глубину локального повреждения, а не распространенность воспалительного инфильтрата. Активность АПФ в сыворотке крови напротив, зависела от суммарной продукции фермента и поэтому характеризовала именно распространенность процесса. После лечения нивелировалось различие между подгруппами по количеству здоровой легочной ткани, а на первый план выходили остаточные функциональные изменения в зоне воспалительного инфильтрата.

Развитие фиброзных процессов в легочной паренхиме, запустевание микроциркуляторного русла, уменьшение суммарной площади сосудистого эндотелия при ХОБЛ ведет к снижению синтеза АПФ которое, в целом необратимо. Поэтому у больных ХОБЛ активность АПФ была тем ниже, чем более выраженными были эмфизематозные изменения.

Как известно, при обострении бронхиальной астмы и хронического бронхита наблюдается резкое полнокровие микроциркуляторного русла легких. Сопутствующая этому гипоксия должна неизбежно приводить к дестабилизации мембран эндотелиальных клеток и некоторому увеличению их проницаемости. Одновременно увеличивается проницаемость и самой сосудистой стенки. Это способствует выходу АПФ из эндотелиальных клеток в плазму крови и внутриальвеолярное пространство.

Возможно, поэтому при поступления в стационар сывороточная и внутрибронхиальная активность АПФ у больных ХОБЛ была выше, чем на стадии ремиссии. После стихания патологического процесса происходит стабилизация эндотелия и снижение внеклеточной активности АПФ до некоторого фоновой уровня, который определяется количеством сохранной легочной ткани, компенсаторными и адаптационными возможностями организма. На стадии ремиссии ХОБЛ, как и у здоровых людей, изменений активности АПФ практически не отмечается.

По нашему мнению развитие артериальной гипотонии у больных с пневмонией и гипертензии у больных ХОБЛ не связано с изменением количества АПФ в стенке сосудов или системном кровотоке. Если это предположение верно, то любое повышение или снижение артериального давления может опосредоваться через АПФ только за счет изменения ингибиторной емкости крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В рамках настоящей работы нами была предпринята попытка выявить некоторые патохимические сдвиги, которые могут иметь диагностическое значение для клинической пульмонологии. Полученные результаты указывают на возможность использования АПФ в качестве маркера морфофункционального состояния легочной ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сыромятникова Н.В., Котенко Т.В., Гончарова В.А. (1997) Метаболическая активность легких., С-Пб.: Интермедика, с. 35-47.
2. Камышников В.С. (2000) Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике в 2 т., Минск: Беларусь, Т.2, с.98.
3. Данилов С.М. Структурно-функциональный анализ ангиотензин-превращающего фермента с помощью моноклональных антител: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1994.
4. Альтшулер Б.Ю., Ройтман А.П., Долгов В.В. (2001) Клиническая лаб. диагн., №7.
5. Тиц Н.У. (1997) Энциклопедия клинических лабораторных тестов: (пер с англ.) М.: Лабинформ.
6. Адамович В.Н., Борисов С.Е., Зубков А.А. и др. (1991) Пробл. туб., №10, 18-21.
7. Винник Л.А., Герович Л.М., Бальбин Е.С. (1990) Пробл. туб., №5, 54-56.
8. Brice E.W., Friedlander W., Bateman E.D. et al. (1995) Chest., 107, №3, 706-710.

9. Татаркина Н.Д., Рущенко Н.А., Авдеева Е.В. и др. (1990) Малый круг кровообращения при хроническом бронхите., Владивосток: Изд-во. Дальневост. ун-та., с. 69-106.
10. Шмыкова И.И. (1987) Протеазы, ингибиторы и ренин в генезе легочной гипертензии при хроническом обструктивном бронхите: Автореф. дис. ... к-та мед. наук., Владивосток.
11. Гельцер Б.И., Коряков А.В., Бутовец Г.В. (1993) Рос. мед. журнал, №1, 4-6.
12. Сон Ен Ай, Демидчик Л.Г., Блинова Л.Л. и др. (1990) Актуальные вопросы физиологии и патофизиологии дыхания. Сб. науч. трудов, Алма-Ата, 90-92.
13. Альтишулер Б.Ю. (2000) Вопр. мед. химии, 46, №6, 626-640.
14. Альтишулер Б.Ю., Ройтман А.П., Долгов В.В. (2000) Клини. лаб. диагн., №12, 10-14.
15. Павлихина Л.В., Елисеева Ю.Е., Орехович В.Н. и др. (1975) Вопр. мед. химии, 21, №1, 54-60.
16. Buttery J.E., Stuart S. (1993) Clin.chem., 39, №2, 312-316.
17. Groff J.L., Harp J.B., DiGirolamo M. (1993) Clin.chem., 39, №3, 400-404.
18. Roche Diagnostic Systems (1994) COBAS MIRA operator's manual, First Edition, March, 7.22-7.34.
19. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. (2000) Клиническая оценка результатов лабораторных исследований., М.: Медицина, с. 235-237.
20. Доценко В.Л., Спирина А.Я., Макинский А.И. и др. (2000) Вопр. мед. химии, 46, №2, 176-183.
21. Stark J.A., Henderson R.A. (1993) Clin.chem., 39, №6, 986-992.
22. Маршалл В.Дж. (1999) Клиническая биохимия: пер с англ. / под ред. Н.И. Новикова, С-Пб.: Невский диалект.

Поступила 06.09.01.

ALTERATION OF ACTIVITY OF ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES AND ACUTE PNEUMONIA.

B.Y. Altchouler¹, A.P. Roitman², T.A. Fedorova³, G.A. Yarovay², E.A. Neshkova², V.G. Novozhenov⁴, S.A. Belkov⁴.

¹Semashko Central Clinical Hospital, Russian Ministry of Railway, Bydaiskya st., 2, 129128, Moscow, tel: (095) 187-06-38, fax (095) 181-24-52;

²Russian Academy of Postgraduate Education, Moscow;

³Sechenov Moscow Medical Academy, Moscow;

⁴State Medical Institute for Postgraduate Training, Defense Ministry, Moscow.

The activity of angiotensin converting enzyme (ACE) was analysed in blood serum and bronchial fluid of 69 patients with acute pneumonia and 77 patients with chronic obstructive pulmonary diseases (COPD). In patients with pneumonia in acute phase ACE activity was lower in both serum and bronchial fluid. During recovery of patients with acute pneumonia ACE activity was normalized. In patients with COPD ACE activity was lower in remission stage and higher (both serum and bronchial fluid) during COPD exacerbation. The changes of ACE activity were more pronounced in bronchial fluid than serum in both COPD and pneumonia.

Key words: angiotensin converting enzyme, chronic obstructive pulmonary diseases, pneumonia, hypotension, hypertension, leucocyte, elastase, zink, inhibitors