УДК 577.123.383:616.24

ПУРИНЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ РАЗЛИЧНОЙ ФОРМЫ И СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Муравлёва Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Турмухамбетова А.К., Клюев Д.А., Демидчик Л.А.

Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, e-mail: muravlev@inbox.ru; vilen53@mail.ru

Проведено определение содержания пуриновых оснований (аденин, гуанин) и интермедиатов катаболизма пуринов (гипоксантин, ксантин, мочевая кислота) в плазме крови у 78 больных с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Больные ХОБЛ были разделены на группы. В 1 и 2 группы включены больные со смешанной формой ХОБЛ различной степени. В 3 – 5 группы включены больные с бронхитической формой ХОБЛ различной степени тяжести. У всех больных ХОБЛ уровень пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов превышала значения контроля. У больных с бронхитической формой ХОБЛ степень аккумуляции пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов зависела от тяжести течения заболевания.

Ключевые слова: пуриновые основания, кровь, хроническая обструктивная болезнь легких.

PURINE BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE DIFFERENT FORMS AND SEVERITY

Muravleva L.E., Molotov-Luchansky V.B., Turmuhambetova A.K., Kluev D.A., Demidchik L.A.

Karaganda State Medical University, Karaganda, e-mail: muravlev@inbox.ru; vilen53@mail.ru

The concentration of the purine bases (adenine, guanine) and intermediates of purine catabolism (hypoxanthine, xanthine, uric acid) in blood plasma of 78 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) was determined. COPD patients were divided into 5 groups. The patients with mixed form and different severity of COPD were included in 1 and 2 groups. The patients with bronchial form and different severity of COPD were included in 3 -5 groups. At all patients with COPD the concentrations of the purine bases (adenine, guanine) and intermediates of purine catabolism were higher in compared of control ones. At patients with bronchial form of COPD the degree of accumulation of purine bases and intermediates depended on the severity of the disease.

Keywords: purine bases, blood, chronic obstructive pulmonary disease

Известно, что внеклеточные нуклеотиды играют большую роль в регуляции метаболических процессов в условиях нормы и при патологии. В воздухоносных путях внеклеточные нуклеотиды являются ключевыми компонентами системы мукоцилиарного клиренса. Нуклеотиды/нуклеозиды в составе мукоцилиарного компонента участвуют в захвате и удалении микроорганизмов из легких. Основная функция нуклеотидов/нуклеозидов в легких – участие в секреции муцина посредством активации $P2Y_2$ рецепторов бокаловидных клеток и стимулирование гидратации муцина через активацию A_{2B} и $P2Y_2$ рецепторов клеток мерцательного эпителия [6, 7]. Во внеклеточной среде АТФ превращается в АМФ при участии внеклеточной эктонуклеотиддифосфорилазы или CD39. АМФ быстро превращается в аденозин при участии экто -5′- нуклеотидазы или CD73 [2]. Аденозин взаимодействует с трансмембранными рецепторами 4 подтипов: A_1, A_3, A_{2A} и A_{2B}. Соотношение этих рецепторов и локализация на мембранах клеток достаточно вариабельна.

K. Varani et al. проведено исследование экспрессии, сродства и плотности рецепторов аденозина A_1, A_3, A_{2A} и A_{2B} в периферической легочной паренхиме здоровых людей, лиц с длительным стажем курения и больных с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Было установлено, что рецепторы аденозина экспрессированы в различных клетках периферической легочной паренхимы. У больных с ХОБЛ сродство рецепторов A_1, A_3, A_{2A} существенно снижалось по сравнению с таковыми здоровых лиц. В тоже время плотность этих рецепторов возрастала. Сродство рецепторов A_{2B} у больных с ХОБЛ не менялось по сравнению с контролем, но обнаружено значимое снижение их плотности. Изменение сродства и плотности рецепторов коррелировало с изменением коэффициента FEV_1/FVC [3].

Роль внеклеточного аденозина в механизмах развития и прогрессирования болезней легких в настоящее время активно изучается [10]. Предложены гипотезы участия внеклеточного аденозина в прогрессировании патологического процесса тканях легких у больных с ХОБЛ. Согласно одной из них, при хроническим воспалении аденозин стимулирует высвобождение провоспалительных цитокинов [8]. Caruso M et al.

[4] высказано предположение, что эффекты аденозина при ХОБЛ определяются субтипом рецептора и концентрацией аденозина.

Вместе с тем, анализ приведенных исследований показал, что имеются единичные исследования по изучению направленности и степени изменения содержания пуриновых оснований и других интермедиатов катаболизма пуринов при ХОБЛ и других хронических заболеваниях органов дыхания [9].

Целью настоящего исследования явилось изучение содержания пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных с ХОБЛ различной формы и степени тяжести.

Обследовано 78 больных, в том числе 45 мужчин и 33 женщины в возрасте от 39 до 67 лет. Контрольная группа состояла из 25 здоровых лиц в том же возрастном диапазоне. Пациенты находились на стационарном лечении и амбулаторном лечении и обследовании. Дыхательная недостаточность (ДН) устанавливалась на основании синдрома одышки в состоянии покоя и при незначительной физической нагрузке, представляющей собой ходьбу на 100 метров медленным темпом (скорость движения не выше 5 шагов в минуту). ДН I степени диагностирована у – 25%, ДН II степени – 70% пациентов. У 5 % обследованных больных были зафиксированы симптомы тяжелой дыхательной недостаточности, что потребовало кратковременного их пребывания в отделении интенсивной терапии. Верификация диагноза ХОБЛ проводилась по комплексу общепринятых критериев. Диагностика основывалась на анамнестических данных, клинических проявлениях и результатах исследования вентиляционной функции легких. У 100 процентов больных выявлена привычка к курению табака. Количество выкуриваемых сигарет (пачек/лет) составляло в среднем 200/5. Индекс курящего человека (ИКЧ) составил > 20 у 67% больных 1-й группы и у 73% больных, вошедших во 2-ю группу. У 45% пациентов отмечены профессиональные вредности (стаж подземной работы на угольных шахтах свыше 10 лет, работа на деревообрабатывающих предприятиях, цементных заводах), атмосферные загрязнения (жители городов Темиртау, Караганды, Балхаша составили 79% обследованных).

Основными клиническими проявлениями ХОБЛ были кашель с мокротой и одышка. Кашель отмечался на протяжении всего дня, реже только в ночное время. Количество мокроты было небольшим, вне обострений её характер был слизистым. У 54% больных отделение мокроты происходило после продолжительного кашля.

Всем больным проводилось цитологическое исследование мокроты, которое обнаруживало наличие клеток альвеолярного эпителия, эластические волокна, сидерофаги. У 54% больных 1 группы и 61% больных 2 группы в период обострения на момент поступления в стационар обнаруживалось большое количество лейкоцитов, представленных в основном нейтрофилами, а также пробки Дитрихса. Это расценивалось как свидетельство гнойно-воспалительного процесса в слизистой бронхиального дерева.

При исследовании крови (общий анализ) у 67% больных ХОБЛ бронхитического типа в стадии обострения наблюдался нейтрофильный лейкоцитоз с палочкоядерным сдвигом и увеличение СОЭ в пределах от 15 до 39 мм в час. При смешанном типе ХОБЛ в стадии обострения СОЭ повышалась от 14 до 27 мм/час. При стабильном течении ХОБЛ существенных изменений содержания лейкоцитов периферической крови не отмечалось. У пациентов с ДН II степени с развитием гипоксемии наблюдался полицитемический синдром с изменением гематокрита (гематокрит > 45% у женщин и > 50% у мужчин), повышение числа эритроцитов (от 5,5 до 6,3х1012/л), высокий уровень гемоглобина (от 175 до 190 г/л), низкая СОЭ (в пределах 1-2 мм/час).

Электрокардиография выявила у 30% больных признаки гипертрофии правых отделов сердца.

В качестве основного критерия диагноза ХОБЛ использовался золотой диагностический стандарт – выявление снижения воздушного потока при исследовании вентиляционной функции легких. Объем форсированного выдоха в первую секунду (FEV1) был снижен у 100 процентов больных. Для оценки обратимости обструктивных нарушений вентиляции проводили фармакологическую пробу. Исходное значение FEV1 сравнивали с тем же параметром через 30–45 мин после ингаляции симпатомиметика (400 мкг) или холинолитика (80 мкг), или комбинации бронхолитиков разного механизма действия. С этой же целью проводилась пикфлоуметрия (n=17). Прирост пиковой скорости выдоха менее чем на 10% отмечался у пациентов 1-й группы и менее чем на 15% у больных 2-й группы.

Для определения стадий, или степеней тяжести ХОБЛ мы использовали так называемую спирометрическую классификацию, включающую согласно GOLD-2006 четыре стадии: стадия I – легкая; стадия II – среднетяжелая; стадия III – тяжелая; стадия IV – крайне тяжелая.

В этих целях использовали заданную величину постбронходилатационного отношения ОФВ1/ФЖЕЛ <0,7 в качестве критерия ограничения скорости воздушно-

го потока. Для сведения к минимуму риска неправильной диагностики использовали подход, рекомендуемой экспертами ВОЗ [5]: определили нижнюю границу нормальных значений (НГН) отношения ОФВ1/ФЖЕЛ, которая определяется по нормальному статистическому распределению I – легкая ОФВ1/ФЖЕЛ <0,70; ОФВ1 .80 % от должного; II – среднетяжелая ОФВ1/ФЖЕЛ <0,70; 50 % . ОФВ1 < 80 % от должных значений; III – тяжелая ОФВ1/ФЖЕЛ <0,70; 30 %. ОФВ1 < 50 % от должных значений; IV – крайне тяжелая ОФВ1/ФЖЕЛ <0,70; ОФВ1 <30 % от должного или ОФВ1 <50 % от должного в сочетании с хронической дыхательной недостаточностью.

Объектами исследования служила плазма крови больных и здоровых людей. Сформировано 5 основных групп обследуемых лиц. В первую группу (*n*=14) вошли больные с ХОБЛ средней, или умеренной степени тяжести смешанной клинической формы (эмфизематозная и бронхитическая) в стадии обострения процесса с дыхательной недостаточностью (ДН) 2 степени. Вторую группу (*n*=20) составили больные ХОБЛ тяжелого течения, также смешанной формы в стадии обострения с ДН2. 3 группа (*n*=21) сформирована больными с ХОБЛ средней степени тяжести и преимущественно бронхитическим клиническим вариантом, в стадии обострения. Здесь также имела место ДН2. 4 группа (*n*=13) представлена больными ХОБЛ тяжелого течения, бронхитической формы с ДН2; 5 группа (*n*=10) представлена больными ХОБЛ крайне тяжелого течения, бронхитической формы с ДН3. До начала исследования от всех больных и здоровых лиц было получено информированное согласие на участие. Кровь отбирали венепункцией в утренние часы и стабилизировали гепарином. Эритроциты отделяли от плазмы центрифугированием.

В плазме крови проводили определение содержания пуриновых оснований (гуанина и аденина), а также интермедиатов пуринового обмена: гипоксантина (ГКс), ксантина (Кс) и мочевой кислоты (МК) [1] и выражали в единицах экстинкции (ед.экст.). Также рассчитывались индексы соотношения Кс/ГКс, МК/Кс и МК/ГКс. Соотношение Кс/ГКс отражает активность первой фазы работы ксантиноксидазы, отношение МК/Кс – второй фазы, а отношение МК/ГКс – общую активность фермента.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета прикладных программ STATISTICA версия 7.0 с учетом вычислительных методов, рекомендуемых для биологии и медицины. Статистические методы исследования включали в себя: расчет медианы и моды, среднего квадратичное отклонения. Для определения достоверности полученных показателей использовался F – тест Фишера. Для определения корреляций между показателями использовались парные коэффициенты Пирсона.

Результаты определения пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов представлены в табл. 1.

В результате проведенного исследования установлено, что у больных с ХОБЛ смешанной формы средней степени тяжести в плазме крови достоверно возрастает содержание гуанина (на 58 %) и аденина (на 64 %), а также гипоксантина (на 64 %), ксантина (49 %) и мочевой кислоты (на 37 %) по сравнению с таковыми контроля.

Таблица 1

Содержание пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных с ХОБЛ различной формы и степени тяжести (X ± m)

Группы	Гуанин	Гипоксантин	Аденин	Ксантин	МК
Контроль	138,29 ±26,16	111,57 ±23,80	89,64 ±27,27	132,14±28,72	161,57±33,62
ХОБЛ средней тяжести, смешанная форма	217,70 ± 81,73*	183,5± 75,22*	146,90± 50,07*	197,40±52,20*	220,80±59,98
ХОБЛ тяжелое течение, смешанная форма	187,21 ± 60,63*	160,86 ± 68,89*	125,79 ± 58,75*$	167,07 ±43,03*$	213,43 ± 63,65*
ХОБЛ средней тяжести, бронхитическая форма	177,87± 67,87$	142,93 ± 50,67*$	110,40 ± 36,18#$	162,27 ±52,33$	206,53 ±77,59
ХОБЛ тяжелое течение, бронхитическая форма	216,10 ±65,15*	178,80 ± 9,79*	142,80 ± 55,71*	200,90 ±48,17*	233,80 ±46,23
ХОБЛ крайне тяжелое течение	256,0 ±82,65*	218,0±75,30*	181,20 ±72,11*	228,40 ±57,69*	245,40±31,04*

* – достоверность по отношению к контролю; # – достоверность между группами с одинаковой степенью тяжести ХОБЛ, но с разными формами (группа 1 и группа 3); $ – достоверность отличий с группой 5.

В плазме крови больных с тяжелым течением ХОБЛ смешанной формы содержание интермедиатов катаболизма пуринов также достоверно превышали значение контроля. В то же время, обращает на себя внимание тенденция к снижению содержания анализируемых показателей в плазме крови больных 2 группы по сравнению с таковыми больных ХОБЛ смешанной формы средней степени тяжести.

У больных ХОБЛ бронхитической формы зафиксирован иной тренд. У больных с ХОБЛ средней тяжести содержание пуриновых оснований и их метаболитов (за исключением мочевой кислоты) достоверно превышало контроль. При нарастании тяжести течения болезни наблюдалось последовательное увеличение содержания в плазме крови больных гуанина, аденина, ксантина, и гипоксантина, причем различия по сравнению со значениями аналогичных показателей у больных 3 группы носили достоверный характер. При общей тенденции к увеличению уровня мочевой кислоты мы не обнаружили четкой зависимости изменения её концентрации в плазме крови больных в зависимости от клинической формы и степени тяжести.

Расчет индексов, характеризующих активность ксантиноксидазы, показал следующее. У больных ХОБЛ смешанной формы средней тяжести индексы МК/ГКс и МК/Кс снижались относительно контроля. При тяжелом течении ХОБЛ смешанной формы зафиксирована тенденция к снижению Кс/ГКс и МК/ГКс, что свидетельствует о некотором уменьшении активности ксантиноксидазы. У больных с ХОБЛ бронхитической формы средней тяжести индекс Кс/ГКс был ниже такового контроля, тогда как МК/ГКс и МК/Кс незначительно превышали соответствующие значения нормы. У больных с ХОБЛ бронхитической формы с тяжелым течением индексы Кс/ГКс МК/ГКс и МК/Кс были ниже таковых контроля. Наконец, у больных ХОБЛ крайней степени тяжести индексы Кс/ГКс МК/ГКс и МК/Кс были ниже значений контроля, соответственно, на 10 %, на 19 % и на 11 %.

Анализ полученных результатов позволил сделать следующие выводы. У больных ХОБЛ уровень интермедиатов катаболизма пуринов достоверно превышает значения контроля. Направленность изменения содержания интермедиатов катаболизма пуринов зависит от формы заболевания. У больных с бронхитической формой ХОБЛ степень аккумуляции интермедиатов катаболизма пуриновых оснований в плазме крови зависит от тяжести течения заболевания. Основные тренды индексов, характеризующих активность ксантиноксидазы, демонстрируют незначительное изменение её активности. Это позволяет предположить, что увеличение содержания интермедиатов катаболизма пуриновых оснований в плазме крови больных связано с другими причинами. Вполне допустимо говорить об усиленном высвобождении пуринов из клеток в условиях нарастающей гипоксии (гипоксантин рассматривается как биохимический маркер гипоксии [1, 9]). Другой причиной предположительно может быть увеличение катаболизма внеклеточных нуклеиновых кислот в крови. Самостоятельной проблемой является определение роли внеклеточных пуриновых оснований, особенно соотношения аденин/гуанин, в механизмах развития и прогрессирования патологических состояний, в том числе, ХОБЛ.

Список литературы

1. Орешников Е.В., Гунин А.Г., Мадянов И.В., Орешникова С.Ф. Пурины крови и ликвора при беременности // Проблемы репродукции.– 2008.– № 6. – С. 74-80.

2. Aherne C.M, Kewley E.M, Eltzschig H The resurgence of A2B adenosine receptor signaling // Bochim Biophys Acta. – 2011. – Vol. 1808, N 5. – P. 1329-1339.

3.Alteration of Adenosine Receptors in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease /K. Varani, G. Caramori, F. Vincenzi et al. // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2006. – Vol. 173, No. 4. – P. 398-406.

4. Caruso M, Holgate S.T., Polosa R. Adenosine signalling in airways. //Curr. Opin. Pharmacology. – 2006. – Vol.6, N3. – P.251-256

5. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (2006).

6. Kreda S.M., Seminario-Vidal L., Heusden C.A. et al. Receptor-promoted exocytosis of airway epithelial mucin granules containing a spectrum of adenine nucleotides. J Physiol. 2010;588:2255–2267.

7.Lazarowski ER, Boucher RC. Purinergic receptors in airway epithelia // Curr Opin Pharmacol. – 2009. – 9. – P. 262–267.

8. Mohsenin A, Blackburn MR. Adenosine signaling in asthma and chronic obstructive pulmonary disease // Curr Opin Pulm Med. – 2006. – Vol.12, N1. – P. 54-9.

9.Purine Bases in Blood Plasma of Patients with Chronic Pulmonary Diseases / L.E. Muravluyova, V.B. Molotov Luchanskiy, D.A. Kluyev et al. // European Researcher. 2012. – N 29 – P. 1449-1454.

10. Zhou Y. Adenosine signaling and the regulation of chronic lung disease / Y. Zhou, D.J. Schneider, M.R. Blackburn // Pharmacol Ther. – 2009. – Vol.123, Issue 1. – P. 105–116.