

*В.О.ШКОРБОТУН, О.Й.КИЗИМ, Т.В.МАРКІТАН*

## **ПРОТЕОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ СИРОВАТКИ КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ З ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ГЛОТКИ ТА ШИЇ**

*Каф. оториноларингології (зав. – проф. Р.А. Абизов)  
Нац. мед. академії післядиплом. освіти ім. П.Л. Шупика  
(ректор – чл.-кор. АМНУ, проф. Ю.В. Вороненко)*

Незважаючи на сучасні досягнення в лікуванні пацієнтів з ЛОР-патологією, частота виникнення гнійно-запальних захворювань глотки та шиї зростає [2, 8, 9, 11].

Однією з ознак глибоких поширених флегмон шиї є значна деструкція тканин, яка зумовлена не тільки факторами патогенності мікроорганізмів, а й біологічно активними речовинами, що продукуються організмом людини. Передумовою для розповсюдження гнійного запалення є перевага альтерації над процесами, що забезпечують відмежування патологічного осередку та репарацію тканин.

Крім того, тяжкість перебігу гнійно-запальних захворювань значною мірою залежить від вираженості ендогенної інтоксикації, пов'язаної з всмоктуванням продуктів розпаду некротичних тканин, токсинів мікроорганізмів та інших біологічних складових запального процесу [1]. Провідну роль у вторинній альтерації в осередку запалення відіграють протеолітичні ферменти, які беруть участь не тільки в розщепленні різних білків, а й в утворенні біологічно активних сполук, в імунних, запальних реакціях, гемостазі, обміні сполучної тканини. Здатність протеїназ гідролізувати білки тканин і крові контролюється тканинними та сироватковими білками-інгібіторами, які забезпечують захист організму від надлишкової активації протеїназ ендогенного і екзогенного походження, що має місце при різних патологічних станах і, зокрема, при запальних процесах. Одними з основних регуляторів протеолізу в сироватці крові у людини

є  $\alpha_1$ -інгібітор протеїназ ( $\alpha_1$ ІІІ) та  $\alpha_2$ -макроглобулін ( $\alpha_2$ М). Перший з них має широкий спектр дії, інактивуючи активність еластази, трипсину, хімотрипсину, катепсину G, плазміну, тромбіну. З найбільшою швидкістю  $\alpha_1$ ІІІ пригнічує еластазу нейтрофілів, і його роль полягає в контролюванні активності цього ферменту, котрий спричиняє деструкцію таких компонентів міжклітинного матриксу, як еластин, колаген, протеоглікани, фібронектин [5]. Не менш важливим інгібітором є також  $\alpha_2$ М, якому притаманна здатність контролювати активність серинових, кислих, тіолових і металопротеїназ, а також відігравати важливу роль в клітинному рості, модуляції активності різних цитокінів – інтерлейкінів, факторів росту, в регуляції синтезу NO макрофагами та ін [4]. Поряд з C1-інактиватором,  $\alpha_2$ М є інгібітором калікреїну плазми крові – ферменту, який каталізує утворення вазоактивного пептиду – брадикініну. Його біологічна дія спрямована на регуляцію мікроциркуляції, зниження артеріального тиску, скорочення гладкої мускулатури, стимуляцію синтезу простагландинів, що при їх надмірному утворенні зумовлює виникнення болювого синдрому [3].

В доступній нам літературі відсутні дані щодо комплексного вивчення протеолітичних ферментів та їх інгібіторів в сироватці крові у пацієнтів з гнійно-запальними захворюваннями глотки та шиї [10, 12].

**Мета роботи:** на основі вивчення сумарної активності протеїназ, калікреїну, еластази та їх інгібіторів в сироватці крові

з'ясувати особливості перебігу гнійно-запальних захворювань глотки та шиї та ефективності лікування цього контингенту хворих.

#### **Матеріали та методи дослідження**

З метою дослідження компонентів системи «протеїнази – інгібітори» нами було обстежено 37 осіб із запальними захворюваннями глотки та шиї віком від 15 до 72 років. Чоловіків було 22 (59,46%), жінок – 15 (40,54%). Першу (1-у) групу складала 12 пацієнтів (32,43%) з паратонзиллярним або парафарингеальним абсцесом в стадії інфільтрації, 2-у – 11 (29,73%) з обмеженим гнійним запаленням (паратонзиллярний або інтратонзиллярний абсцес), 3-ю – 14 (37,84%) з гнійним запаленням у двох та більше клітковинних просторах. У контрольну групу увійшло 30 донорів – практично здорових мешканців київського регіону. Дослідження виконувалось з квітня 2007 р. по жовтень 2008 р.

В 1-й групі пацієнти були у віці від 15 до 69 років, жінок було 7, чоловіків – 5. Лівосторонній процес виявлено у 7 хворих, правосторонній – у 5. В 2-й групі вік обстежуваних складав від 17 до 69 років, жінок було 3, чоловіків – 8, лівосторонній процес

діагностовано у 7, правосторонній – у 4 осіб. Пацієнти 3-ї групи були віком від 24 до 72 років, з них жінок – 5, чоловіків – 9.

При виконанні роботи використовувалися наступні біохімічні методи. Про сумарну протеолітичну активність (ПРА) сироватки крові ми судили за розщепленням білкового субстрату – протамінсульфату [5] і виражали її в нмоль аргініну, який відщеплювався від субстрату за 1 хв під впливом протеїнази 1 мл сироватки крові. Активність еластази визначалася за швидкістю гідролізу Suc-Ala<sub>3</sub>-пара-нітроаніліду і виражалася в нмоль пара-нітроаніліду (п-НА), що вивільнявся із субстрату під дією 1 мл сироватки за 1 годину (6). Активність калікреїну визначалася за розщепленням N-Bz-Pro-Phen-Arg-пара-нітроаніліду і виражалася в нмоль п-НА, який утворювався із субстрату під впливом фермента з 1 мл сироватки крові за 1 хв [7]. Вміст  $\alpha_1$ ІІІ і  $\alpha_2$ М досліджувався за методом К.М. Веремєєнка та співавторів [5] і виражався в г/л.

#### **Результати та їх обговорення**

Результати біохімічних досліджень сироватки крові у пацієнтів з гнійно-запальними захворюваннями глотки та шиї представлено в таблицях 1-4.

Таблиця 1

Показники протеолітичної активності та вміст антипротеазних білків в сироватці крові у пацієнтів з запальними захворюваннями глотки та шиї до та після лікування

Показники біохімічних досліджень	Досліджувані показники у обстежуваних осіб (M±m)			Достовірність різниці	
	періоди обстеження пацієнтів (n=37)		практично здорові люди (n=30)	P <sub>1-3</sub>	P <sub>2-3</sub>
	на момент госпіталізації	при виписці зі стаціонару			
ПРА, нмоль арг./ (хв•мл)	99,84±20,76	77,04±10,02	73,00±3,30	< 0,05	< 0,05
Еластаза, нмоль пНА/ (год•мл)	37,70±8,72	24,85±10,09	9,00±1,20	< 0,05	< 0,05
Калікреїн, нмоль пНА/ (хв•мл)	59,82±22,04	45,51±22,02	48,00±3,20	< 0,05	> 0,05
$\alpha_1$ ІІІ (г/л)	3,20±0,33	2,72±0,35	2,00±0,08	< 0,05	< 0,05
$\alpha_2$ М (г/л)	1,78±0,35	1,69±0,35	2,00±0,09	< 0,05	< 0,05

Аналіз представлених в табл. 1 даних вказує на наявність значних змін в протеазно-антипротеазній системі у пацієнтів із запальними захворюваннями глотки та шиї.

Так, ПРА сироватки крові при надходженні хворих у стаціонар становила 99,84±20,76 нмоль арг/(хв•мл), що достовірно перевищує норму, а активність еластази сягала

37,7± 8,72 нмоль пНА/ (год•мл), тоді як в нормі вона складає 9,0±1,2. Ці показники не нормалізувались й на момент виписки обстежуваних осіб.

Відмічаються також зміни в інгібіторній активності сироватки крові, зокрема, за рахунок зростання вмісту  $\alpha_1\text{П}$ , основного антипротеазного білка. Його показник при

надходженні хворих в стаціонар становив 3,2±0,33 г/л, при нормі – 2,0±0,08 г/л. При цьому вміст  $\alpha_2\text{М}$  як на висоті розвитку гнійного процесу, так і при виписці залишався достовірно меншим норми, що можна пояснити підвищенням використанням  $\alpha_2\text{М}$  для зменшення активності ендogenous ензимів, зокрема еластази.

Таблиця 2

Показники протеолітичної активності та вміст антипротеазних білків в сироватці крові у пацієнтів із паратонзиллярним або парафарингеальним абсцесом в стадії інфільтрації до та після лікування

Показники біохімічних досліджень	Досліджувані показники у обстежуваних осіб (M±m)			Достовірність різниці	
	періоди обстеження пацієнтів (n=12)		практично здорові люди (n=30)		
	на момент госпіталізації	при виписці зі стаціонару		P <sub>1-3</sub>	P <sub>2-3</sub>
ПРА, нмоль арг./ (хв•мл)	75,43±11,25	69,92±9,70	73,00±3,30	> 0,05	> 0,05
Еластаза, нмоль пНА/ (год•мл)	44,29±6,24	37,42±6,92	9,00±1,20	< 0,05	< 0,05
Калікреїн, нмоль пНА/ (хв•мл)	71,83±15,94	66,33±13,23	48,00±3,20	< 0,05	< 0,05
$\alpha_1\text{П}$ (г/л)	3,00±0,35	2,60±0,34	2,00±0,08	< 0,05	< 0,05
$\alpha_2\text{М}$ (г/л)	1,68±0,39	1,68±0,38	2,00±0,09	< 0,05	< 0,05

Як свідчать дані табл. 2, протамінрозщеплююча активність сироватки крові у пацієнтів з паратонзиллярним або парафарингеальним абсцесом в стадії інфільтрації, на відміну від хворих 2-ї та 3-ї груп, не відрізнялась від такої в контрольній групі. Активність калікреїну була достовірно вищою, ніж в нормі, у обстежуваних 1-ї групи як при госпіталізації, так і на момент виписки із стаціонару. Слід зазначити, що в 1-й групі виявлено й найвищий рівень еластази, навіть в порівнянні з показниками, отриманими у осіб з гнійним запаленням (P<sub>1-3</sub><0,05, P<sub>1-2</sub><0,05). Це можна пояснити будовою фасції, яка складається з великої кількості сполучнотканинних волокон. Природно, що для лізису еластичних волокон необхідна значна кількість фермента еластази, що й було виявлено у пацієнтів з гнійно-запальними захворюваннями глотки в стадії інфільтрації.

Аналізуючи дані, представлені в табл. 3, слід зазначити, що, на відміну від хворих із запальними процесами в паратонзиллярній або парафарингеальній клітковині в стадії інфільтрації, визначається нормалізація активності калікреїну та достовірно вища за норму, проте достовірно нижча в порівнянні з 1-ю групою як на момент госпіталізації, так і при виписці активність еластази. Це пояснюється будовою жирової клітковини, яка складається з жирових клітин, розділених невеликими прошарками рихлої волокнистої неоформленої сполучної тканини, особливістю будови якої є наявність значної кількості фібробластів, макрофагів, тучних клітин та невеликої кількості волокон (колагенових, еластичних, ретикулярних). Звертає на себе увагу й підвищення ПРА на фоні розвитку гнійного процесу.

Таблиця 3

Показники протеолітичної активності та вміст антипротеазних білків у сироватці крові пацієнтів з паратонзиллярним або інтратонзиллярним абсцесом в стадії абсцедування при госпіталізації їх в стаціонар та після лікування

Показники біохімічних досліджень	Досліджувані показники у обстежуваних осіб (M±m)			Достовірність різниці	
	Періоди обстеження пацієнтів (n=11)		практично здорові люди (n=30)		
	на момент госпіталізації	при виписці зі стаціонару		P <sub>1-3</sub>	P <sub>2-3</sub>
ПРА, нмоль арг./ (хв. • мл)	120,70±6,4	80,47±3,6	73,00±3,3	< 0,05	< 0,05
Еластаза, нмоль пНА/ (год • мл)	30,31±6,4	19,32±3,4	9,00±1,2	< 0,05	< 0,05
Калікреїн, нмоль пНА/ (хв • мл)	50,73±25,7	42,91±24,07	48,00±3,2	> 0,05	> 0,05
α <sub>1</sub> ІІІ (г/л)	3,20±0,28	2,80±0,23	2,00±0,08	< 0,05	< 0,05
α <sub>2</sub> М (г/л)	1,85±0,36	1,66±0,34	2,00±0,09	> 0,05	< 0,05

Таблиця 4

Показники протеолітичної активності та вміст антипротеазних білків в сироватці крові у пацієнтів із гнійним запаленням двох та більше клітковинних просторів при госпіталізації їх в стаціонар та після лікування

Показники біохімічних досліджень	Досліджувані показники у обстежуваних осіб (M±m)			Достовірність різниці	
	періоди обстеження пацієнтів (n=14)		практично здорові люди (n=30)		
	на момент госпіталізації (M±m)	при виписці зі стаціонару (M±m)		P <sub>1-3</sub>	P <sub>2-3</sub>
ПРА, нмоль арг./ (хв. • мл)	104,4±10,75	80,46±10,93	73,0±3,3	< 0,05	< 0,05
Еластаза, нмоль пНА/ (год • мл)	37,86±7,72	18,47±4,08	9,0±1,2	< 0,05	< 0,05
Калікреїн, нмоль пНА/ (хв • мл)	56,66±20,19	29,71±8,62	48,0±3,2	> 0,05	< 0,05
α <sub>1</sub> ІІІ (г/л)	3,37±0,27	2,75±0,42	2,0±0,08	< 0,05	< 0,05
α <sub>2</sub> М (г/л)	1,8±0,31	1,73±0,36	2,0±0,09	< 0,05	< 0,05

Як показано в табл. 4, у обстежуваних осіб на момент виписки спостерігається достовірно нижчий за норму рівень калікреїну. Відмічається також підвищення протамінрозщеплюючої активності, активності еластази та α<sub>1</sub>ІІІ. Зменшення вмісту α<sub>2</sub>М на тлі значного зростання протеолітичної активності сироватки крові не дозволяє втримати баланс протеазно-антипротеазної ак-

тивності і призводить до посилення руйнування тканинних білків, що й проявляється у розширенні зони деструкції тканин, тобто у виникненні поширених глибоких флегмон ший.

#### Висновки

На основі отриманих результатів можна зробити висновок, що у осіб з гнійно-

запальними захворюваннями глотки та шиї спостерігається дисбаланс в системі протеїнази -  $\alpha_1$ PII в бік підвищення протеолітичної активності крові. При запальних захворюваннях глотки та шиї порушення в протеїназно-інгібіторній системі залежали від стадії запалення. Так, на стадії інфільтрації визначалася достовірно вища за норму активність калікреїну, який є одним з основних білків запалення, та найбільша активність еластази, тоді як протамінозщеплююча активність не відрізнялась від норми. При гнійному ж процесі значно підвищувалась протамінозщеплююча активність та збільшувалася вміст  $\alpha_1$ -інгібітора протеїнази.

Наведені дані свідчать про доцільність корекції стану системи «протеїнази-інгібітори» в комплексному лікуванні пацієнтів з гнійно-запальними захворюваннями глотки та шиї.

Таким лікувальним засобом може бути інгібітор Кунітца, що є діючою речовиною антиферментних препаратів (контрикалу, гордоксу, контривену) та інгібірує активність плазміна, трипсина і калікреїна, тобто має ті ж самі точки впливу, що й  $\alpha_1$ -інгібітор протеїнази та  $\alpha_2$ -макроглобулін. Його введення хворим зі зниженим вмістом інгібіторів на тлі підвищеного протеолізу сприятиме прискоренню процесів, спрямованих на обмеження осередку запалення. Таким чином, використання антипротеолітичних препаратів у пацієнтів із запаленням глибоких клітковинних просторів як в стадії абсцедування, так і в стадії інфільтрації дозволить запобігти розвитку поширених флегмон шиї.

1. Барило А.С. Комплексное лечение больных с острой гнойной инфекцией мягких тканей лица и шеи с использованием озонированных растворов и композиций сорбентов // Современная стоматология. – 2005. – №3. – С. 98.
2. Бобров В.М. Хирургическое лечение острого парафарингита // Вестн. оториноларингологии. – 2004. – №3. – С. 42.
3. Веремеенко К.Н. Кининовая система. – К.: Здоров'я, 1977. – С. 184.
4. Веремеенко К.Н. Системная энзимотерапия. Теоретические основы, опыт клинического применения. – К.: Морион, 2000. – С. 320.
5. Веремеенко К.Н., Голобородько В.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1988. – С. 200.
6. Веремеенко К.Н., Кизим А.И., Терентьев А.Г. Определение эластазы и ее ингибиторов в сыворотке крови с помощью хромогенных субстратов // Клини. лаб. диагностика. – 1992. – №5-6. – С. 58-61.
7. Доценко В.Л., Яровая Г.А., Немкова Е.А. Использование трипептидного хромогенного субстрата для одновременной оценки четырех показателей калликреин-кининовой системы // Вопросы мед. химии. – 1989. – №2. – С. 128-133.
8. Коцурба А.А., Гончарук В.П., Назарук Е.И. К проблеме паратонзиллярных абсцессов // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2008. – №3-с. – С. 70-71.
9. Пилипюк Н.В., Юрин А.С., Гобжелянова Т.А., Наш опыт лечения флегмон шеи // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2007. – №3-с. – С. 216-217.
10. Трофименко Н.П., Древняк Н.С., Лобинцев В.Г., Малеев, О.В., Окунь О.С., Опыт лечения больных с флегмоной шеи, осложнившей острые воспалительные процессы в глотке, гортани, полости рта и щитовидной железе // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 1994. – С. 51.
11. Хайбуллаев Н.Н., Богданов В.В., Балабанцев А.Г., Кобицкий М.М., Паратонзиллярный абсцесс. Актуальные вопросы диагностики и лечения // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2007. – №3-с. – С. 270-271.
12. Цеймах Е.А., Тулупов В.А., Гуревич Ю.Ю., Зайцев В.А. Лікування при розлитих флегмонах шиї // Вестн. хирургии. – 2001. – Т. 160, №2. – С. 35.

Надійшла до редакції 22.04.09.

© В.О. Шкорботун, О.Й. Кизим, Т.В. Маркітан, 2009

**ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ  
СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С  
ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ  
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГЛОТКИ И ШЕИ**

*Шкорботун В.О., Кизим А.Й., Маркитан Т.В.  
(Киев)*

*Резюме*

Выполнено исследование компонентов системы протеиназы – ингибиторы в сыворотке крови у 37 больных с гнойно-воспалительными заболеваниями глотки и шеи. Согласно полученным результатам, у данной категории пациентов наблюдается дисбаланс в системе протеиназы –  $\alpha_1$ ИП в сторону повышения протеолитической активности крови. Доказана целесообразность применения антипротеолитических препаратов у лиц с гнойно-воспалительными заболеваниями глотки и шеи как в стадии абсцедирования, так и в стадии инфильтрации.

**THE PROTEOLYTIC ACTIVITY IN SERUM  
OF PATIENTS WITH PYOINFLAMMATORY  
DISEASES OF THE PHARYNX AND  
THE NECK**

*Shkorbotun V.O., Kizim O.I., Markitan T.V.  
(Kyev)*

*Summary*

The article deals with the problem of investigation of protease-antiprotease system of patients with pyoinflammatory diseases of the pharynx and the neck. The aim of the study is to determine indicators of proteolysis and inhibitory activity in serum, such as  $\alpha_1$ -IP ( $\alpha_1$  protease inhibitor),  $\alpha_2$ M ( $\alpha_2$ -macroglobulin), activity splitting protamine, activity of elastase and kallikrein. 37 patients with pyoinflammatory diseases of the pharynx and the neck and 30 healthy people have been selected for this study. It has been established that proteolysis activity in serum is increasing as on the suppurative inflammation stage as on the infiltration stage. It has been substantiated the expediency to antiprotease therapy.