

УДК: 616.72.-002-053.2/5:577.15

Роль протеолітичних ферментів у прогресуванні деструкції суглобового хряща у дітей та підлітків, хворих на остеоартроз

Д.А.Кашкалда, І.С.Лебець, Н.С.Шевченко

*ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України» (Харків, Україна)
iozdp@ukrpost.ua*

В результаті проведених досліджень у дітей і підлітків, хворих на остеоартроз (ОА), встановлено зміни активності ферментів катаболізму колагену та еластину, порушення балансу у функціонуванні системи фермент-інгібітор, вираженість яких залежить від прогресування захворювання ОА. При несприятливому перебізі захворювання реєструється зниження активності еластази та рівня її інгібіторів і надмірне зростання активності колагенази. Висока активність колагенази та низький рівень білків-інгібіторів свідчать про патогенетичну значущість цих показників в деградації хряща та хронізацію патологічного процесу.

Ключові слова: діти, підлітки, остеоартроз, прогресування, колагеназа, еластаза, інгібітори еластази.

Роль протеолитических ферментов в прогрессировании деструкции суставного хряща у детей и подростков, больных остеоартрозом

Д.А.Кашкалда, И.С.Лебец, Н.С.Шевченко

В результате проведенных исследований у детей и подростков, больных остеоартрозом (ОА), установлены изменения активности ферментов катаболизма коллагена и эластина, нарушение баланса в функционировании системы фермент-ингибитор, выраженность которых зависит от прогрессирования ОА. При неблагоприятном течении заболевания регистрируется снижение активности эластазы и уровня ее ингибиторов и избыточный рост активности коллагеназы. Высокая активность коллагеназы и низкий уровень белков-ингибиторов свидетельствуют о патогенетической значимости этих показателей в деградации хряща и хронизации патологического процесса.

Ключевые слова: дети, подростки, остеоартроз, прогрессирование, коллагеназа, эластаза, ингибиторы эластазы.

Role of proteolytic enzymes in the progress of arthral cartilage destruction in children and adolescents with osteoarthritis

D.A.Kashkalda, I.S.Lebets, N.S.Shevchenko

During examination of children and adolescents with osteoarthritis (OA) there have been established some changes in activity of collagenase and elastin catabolism enzymes, disturbance of balance in functioning of the enzyme-inhibitor system, expression of which depends on OA progression. An unfavorable disease course was accompanied by a decrease in elastase activity and level of its inhibitors, and also by abundant increase of collagenase activity. Increased collagenase activity and low level of inhibitor proteins indicate pathogenetic importance of these parameters in degradation of cartilage and chronicisation of pathological process.

Key words: children, adolescents, osteoarthritis, progression, collagenase, elastase, elastase inhibitors.

Вступ

Остеоартроз – найпоширеніше захворювання суглобів, на яке страждає близько 20% населення (Бенца, 2005). Слід зазначити, що в останні роки намітилася тенденція до збільшення частоти остеоартрозу (ОА), його «омолодження» (Лебець і др., 2005). ОА розглядається як мультифакторна гетерогенна група захворювань суглобів різної етіології, що має схожі біологічні, морфологічні і клінічні ознаки, результатом яких є ураження всіх компонентів суглобів, у першу чергу хряща (Гончарик, 2002; Коваленко, Борткевич, 2003).

Згідно сучасних уявлень, значну роль у деструкції суглобів відіграють протеолітичні ферменти, що обумовлюють дегенерацію колагену, еластину та протеогліканів. Зокрема, матриксним металопротеїназам (ММП) відводиться важливе місце в патогенезі ОА, основними мішенями яких стають структурні компоненти екстрацелюлярного матриксу (протеоглікани та колаген II типу) (Massova et al., 1998). Крім того, колагенолітичні ММП впливають і на функціональну активність клітин субхондральної кістки, пришвидшуючи остеокластичну резорбцію (Коваленко, Шуба, 2004). У хворих

на ОА знаходять підвищену активність трьох представників ММП – колагеназ, стромелізинів і желатиназ (Martel-Pelletier et al., 1999). Колагеназа відповідальна за деградацію нативного колагену, стромелізин – колагену IV типу, протеогліканів і ламініну, а желатиназа – за деградацію желатину, колагену IV, V і XI типів та еластину (Ковалева, Колосов, 2002).

Відомо, що, окрім металопротеїназ, руйнувати колаген і протеоглікани може еластаза нейтрофілів, якій відводиться важлива роль у процесі деструкції сполучнотканинних утворень (Руденко, Руденко, 1990). Система еластин-еластаза-інгібітори забезпечує еластичність хряща і, одночасно з колагеном, стійкість до компресії (Harbington, 1999). Біологічна активність колагеназ та еластази контролюється специфічними тканинними і сироватковими інгібіторами, активність яких зменшена у хворих з ОА (Коваленко, Борткевич, 2003). Припускають, що при ОА в суглобовому хрящі виникає локальне порушення балансу між продукцією металопротеїназ та їх тканинних інгібіторів (Shinmei, Sanamori, 2004).

Патогенетичні механізми розвитку і прогресування ОА в основному вивчаються у дорослих хворих, хоча дегенеративні процеси у хрящі нерідко починаються значно раніше – у дітей і підлітків, що недооцінюється (Кашкалда и др., 2009; Лебець та ін., 2010). Це затримує діагностику захворювання і призводить до неадекватного лікування і прогресування хвороби. За даними різних авторів, ОА діагностується у дітей і підлітків у 3,7–13,1 % (Пустовойт та ін., 2005; Лебець та ін., 2008).

Мета нашого дослідження – вивчення активності протеолітичних ферментів та їх інгібіторів у дітей і підлітків з ОА на тлі прогресування.

Матеріали та методи

Обстежено 44 підлітків у віці від 12 до 17 років з ОА. Групу контролю склали 19 однолітків. Стан катаболізму колагену та еластину оцінювали за активністю колагенази, еластази та її інгібіторів у сироватці крові. Визначення колагенолітичної активності плазми крові було засновано на інкубації її з колагеном і наступним визначенням продуктів розпаду цього білка за оксипроліном (Шараев и др., 1987). Активність еластази оцінювали шляхом виміру кількості n-нітроаніліну, що вивільнюється з нітроанілідного субстрату (сукциніл-(аланін)₃-паранітроанілід) під дією ферменту, що міститься в сироватці (Веремеєнко и др., 1992). Рівень інгібіторів еластази визначали за різницею між кількістю взятої в пробу еластази та еластази, що залишилася після інкубації із сироваткою (Веремеєнко и др., 1992).

Статистична обробка результатів дослідження проводилася за допомогою пакету програм «Statgraphics Plus 5.0». Для визначення вірогідності відмінностей використовували критерій Стьюдента, застосовувався кореляційний аналіз Пірсона.

Результати та обговорення

Визначено (таблиця), що у хворих на ОА колагенолітична активність крові збільшена в 2,6 рази у порівнянні з групою контролю ($p < 0,05$), що свідчить про істотні порушення обміну колагену у даного контингенту підлітків (Лебець и др., 2005). Система еластаза-інгібітори еластази не змінювалася, хоча спостерігалася деяка тенденція до зниження активності ферменту та її інгібіторів (у середньому на 20,3%).

Для з'ясування ролі протеолітичних ферментів у прогресуванні деструкції суглобового хряща був проведений порівняльний аналіз змін активності ферментів у підлітків із несприятливим (прогресування процесу) і сприятливим (відсутність прогресування) перебігом захворювання.

Таблиця.

Активність ферментів катаболізму білків сполучної тканини у хворих на остеоартроз із урахуванням прогресування захворювання

Показники	Контрольна група		Хворі на ОА		Хворі без прогресування ОА		Хворі з прогресуванням ОА	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
Колагеназа, мкмоль/л/год	19	8,27±0,71	44	21,88±2,05*	27	18,96±1,25*	17	23,00±1,77*,**
Еластаза, мкмоль/л/год	19	42,24±3,27	33	35,17±3,46	19	37,25±5,15	14	32,34±3,34*
Інгібітори еластази, г/л	19	0,35±0,03	33	0,29±0,02	19	0,34±0,02	14	0,23±0,03*,**

Примітка: * – $p < 0,05$ у порівнянні з контрольною групою;

** – $p < 0,05$ у порівнянні з хворими без прогресування ОА.

У хворих без прогресування ОА активність еластази та антиеластази не відрізнялася від значень у здорових підлітків, проте колагенолітична активність була збільшеною більш ніж у 2 рази ($p < 0,05$). У хворих із прогресуванням відбувалося ще більше підвищення активності ферменту (майже в 4 рази в порівнянні з контрольними значеннями і на 21,3% у порівнянні з групою із сприятливим перебігом захворювання, $p < 0,05$), що є підтвердженням важливої ролі ферменту в деградації суглобового хряща. Слід зазначити, що, незалежно від перебігу захворювання, у 88,89% хворих активність ферменту була вищою за норму, що свідчить про патогенетичну значущість колагенази в деградації хряща.

У хворих із прогресуванням ОА активність еластази, хоча вірогідно і не відрізнялася щодо групи без прогресування, проте була зниженою у порівнянні зі здоровими однолітками (на 23,5%, $p < 0,05$). При цьому при індивідуальному аналізі було встановлено, що у підлітків без прогресування зниження активності еластази зустрічалося рідше, ніж із прогресуванням ОА ($57,89 \pm 4,48$ % і $80,0 \pm 3,33$ % відповідно, $p < 0,05$).

Одночасно з пригніченням активності еластази у хворих із несприятливим перебігом захворювання знижувався і рівень інгібіторів еластази у порівнянні з групами без прогресування і контролю (у середньому на 33%, $p < 0,05$). У дітей із сприятливим перебігом активність антиеластази не відрізнялася від показників у здорових підлітків, хоча у $42,10 \pm 6,17$ % пацієнтів вона була зниженою, але менше, ніж у хворих із прогресуванням ОА ($66,67 \pm 4,70$ %, $p < 0,05$).

Зниження антиеластазної активності, можливо, свідчить про порушення синтезу і секреції білків-інгібіторів у хворих на ОА (Коваленко, Борткевич, 2003). Не виключений вплив прозапальних цитокінів, і, перш за все, інтерлейкіну-1 (ІЛ-1) на пригнічення синтезу інгібіторів протеолітичних ферментів і посилення синтезу колагенази (Yu et al., 1997). Слід зазначити, що у більшості підлітків з ОА виявляється гіперпродукція прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-6, фактор некрозу пухлин- α) (Матвієнко, 2006).

З іншого боку, виявлене пригнічення системи еластаза-антиеластаза можна розцінювати як сприятливий чинник, який вказує на посилення синтезу еластину. Це може бути причиною зменшення рівня та темпів деструктивних процесів у суглобовому хрящі і сприяти відновленню його еластичності. Проте виявлений недолік білків-інгібіторів може привести і до наступного підвищення активності еластази.

Відомо, що серед сироваткових інгібіторів еластази основним є α_1 -інгібітор протеїнази, який має широкий спектр дії: інактивує активність не тільки еластази, але й інших протеолітичних ферментів, зокрема колагенази (Веремеєнко и др., 1988). Після проведеного кореляційного аналізу було встановлено достатньо тісний позитивний взаємозв'язок між активністю колагенази і рівнем інгібіторів еластази у дітей із прогресуванням ОА ($r = 0,76$; $p < 0,009$). Проте, враховуючи низькі значення антиеластазної активності в цій групі, можна припустити, що виснаження інгібіторної системи належить до важливих причин підвищеної активності колагенази у хворих на ОА.

Висновки

В результаті проведених досліджень у дітей та підлітків, хворих на ОА, встановлено зміни активності ферментів катаболізму колагену та еластину, порушення балансу у функціонуванні системи фермент-інгібітор, вираженість яких залежить від прогресування захворювання. При несприятливому перебігу захворювання реєструється зниження активності еластази та рівня її інгібіторів і надмірне зростання активності колагенази. Висока активність колагенази та низький рівень білків-інгібіторів свідчать про патогенетичну значущість цих показників в деградації хряща та хронізацію патологічного процесу. Можливо, однією з основних причин зростання ферменту у хворих на ОА є зниження рівня білків-інгібіторів.

Дослідження активності протеолітичних ферментів (особливо колагенази) та їх інгібіторів у сироватці крові дітей та підлітків, хворих на ОА, має певні закономірності, що дає можливість використовувати їх для характеристики перебігу, прогресування захворювання та оцінки ефективності лікувальних заходів.

Список літератури

- Бенца Т. Остеоартроз: диагностика и лечение // Ліки України. – 2005. – №6. – С. 44–47. /Bentsa T. Osteoartroz: diagnostika i lecheniye // Liky Ukrainy. – 2005. – №6. – S. 44–47./
- Веремеєнко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоровья, 1988. – 200с. /Veremeyenko K.N., Goloborod'ko O.P., Kizim A.I. Proteoliz v norme i pri patologii. – K.: Zdorov'ya, 1988. – 200s./
- Веремеєнко К.Н., Кизим А.И., Терентьев А.Г. Определение активности эластазы и ее ингибиторов в сыворотке крови с помощью хромогенных субстратов // Клини. лаб. диагностика. – 1992. – № 5–6. –

- C. 58–61. /Veremeyenko K.N., Kizim A.I., Terent'yev A.G. Opredeleniye aktivnosti elastazy i yeye ingibitorov v syvorotke krovi s pomoshch'yu khromogennykh substratov // Klin. lab. diagnostika. – 1992. – № 5–6. – S. 58–61./
- Гончарик І.І. Остеоартроз // Медицина. – 2002. – №2. – С. 27–29. /Goncharik I.I. Osteoartroz // Meditsina. – 2002. – №2. – S. 27–29./
- Кашкалда Д.А., Лебець І.С., Шевченко Н.С. Изменения активности ферментов катаболизма белков соединительной ткани у детей, больных остеоартрозом, в процессе катamnестического наблюдения // Мониторинг здоров'я школярів: міжсекторальна взаємодія лікарів, педагогів, психологів: Матер. науково-практ. конф. – Харків, 2009. – С. 46–48. /Kashkalda D.A., Lebets I.S., Shevchenko N.S. Zmneneniya aktivnosti fermentov katabolizma belkov soyedinitel'noy tkani u detey, bol'nykh osteoartrozom, v protsesse katamnestichekogo nablyudeniya // Monitoryng zdorov'ya shkolyariv: mizhsektoral'na vzayemodiya likariv, pedagogiv, psykhologiv: Mater. nauково-prakt. конф. – Kharkiv, 2009. – S. 46–48./
- Ковалева О.Н., Колосов Е.В. Общебиологические и кардиальные эффекты матриксных металлопротеиназ (обзор литературы) // Журн. АМН України. – 2002. – Т.8, №4. – С. 738–748. /Kovaleva O.N., Kolosov Ye.V. Obshchebiologicheskiye i kardial'nyye efekty matriksnykh metalloproteinaz (obzor literatury) // Zhurn. AMN Ukrainy. – 2002. – T.8, №4. – S. 738–748./
- Коваленко В.Н., Борткевич О.П. Остеоартроз: Практическое руководство. – К.: МОРИОН, 2003. – 448с. /Kovalenko V.N., Bortkevich O.P. Osteoartroz: Prakticheskoye rukovodstvo. – K.: MORION, 2003. – 448s./
- Коваленко В.М., Шуба Н.М. Номенклатура, класифікація, критерії діагностики та програми лікування ревматичних хвороб. – Київ, 2004. – 156с. /Kovalenko V.M., Shuba N.M. Nomenklatura, klasyfikatsiya, kryterii diagnostyky ta programy likuvannya revmatychnykh khvorob. – Kyiv, 2004. – 156s./
- Лебець І.С., Матвієнко Е.В., Костюрина Н.А. и др. Остеоартроз и гипермобильность суставов // Травма. – 2005. – №3. – С. 262–266. /Lebets I.S., Matviyenko Ye.V., Kostyurina N.A. i dr. Osteoartroz i giperomobil'nost' sustavov // Travma. – 2005. – №3. – S. 262–266./
- Лебець І.С., Шевченко Н.С., Матвієнко О.В. Особливості суглобового синдрому в підлітків із початковими ознаками остеоартрозу // Проблеми остеології. – 2008. – № 1–2. – С. 47–49. /Lebets' I.S., Shevchenko N.S., Matviyenko O.V. Osoblyvosti suglobovogo syndromu v pidlitkiv iz pochatkovymy oznakamy osteoartrozu // Problemy osteologii. – 2008. – № 1–2. – S. 47–49./
- Лебець І.С., Шевченко Н.С., Летяго Г.В. та ін. Оцінка ефективності лікування підлітків, хворих на остеоартроз колінних суглобів // Тавричеський медико-біол. вестник. – 2010. – Т.13, №2. – С. 55–57. /Lebets' I.S., Shevchenko N.S., Letyago G.V. ta in. Otsinka efektyvnosti likuvannya pidlitkiv, khvorykh na osteoartroz kolinnnykh suglobiv // Tavricheskiy mediko-biol. vestnik. – 2010. – T.13, №2. – S. 55–57./
- Матвієнко О.В. Характеристика показників імунної системи у підлітків, хворих на остеоартроз, на тлі гіпермобільного синдрому // Педіатрія, акушерство і гінекологія. – 2006. – №1. – С. 62–29. /Matviyenko O.V. Kharakterystyka pokaznykiv imunnoi systemy u pidlitkiv, khvorykh na osteoartroz, na tli giperomobil'nogo syndromu // Pediatriya, akusherstvo i ginekologiya. – 2006. – №1. – S. 62–29./
- Пустовойт Б.А., Бабуркіна Е.П., Рашид Т. Особенности клинического течения диспластического гонартроза у лиц молодого возраста // Матер. IV Нац. конг. ревматологов Украины. – Полтава, 2005. – С.58. /Pustovoyt B.A., Baburkina Ye.P., Rashid T. Osobennosti klinicheskogo techeniya displasticheskogo gonartroza u lits mladogo vozrasta // Mater. IV Nats. kong. revmatologov Ukrainy. – Poltava, 2005. – S.58./
- Руденко В.Г., Руденко Ю.В. Протеолитические ферменты и их ингибиторы при артритах // Ревматология. – 1990. – № 4. – С. 42–50. /Rudenko V.G., Rudenko Yu.V. Proteoliticheskiye fermenty i ikh ingibitory pri artritakh // Revmatologiya. – 1990. – № 4. – S. 42–50./
- Шараев П.Н., Пишков В.Н., Зворыгина Н.Г. и др. Определение коллагенолитической активности плазмы крови // Лаб. дело. – 1987. – №1. – С. 60–62. /Sharayev P.N., Pishkov V.N., Zvorygina N.G. i dr. Opredeleniye kollagenoliticheskoy aktivnosti plazmy krovi // Lab. delo. – 1987. – №1. – S. 60–62./
- Harbingham T.E. Dynamics of bone and cartilage metabolism // In: Proteoglycans and glycosaminoglycans. – San Diego: Academic Press, 1999. – P. 71–81.
- Martel-Pelletier J., Di Batista J.A., Lajeunesse D. Biochemical factors in joint tissue degradation in osteoarthritis // In: Osteoarthritis. Clinical and experimental aspects. – Springer, 1999. – P. 156–187.
- Massova I., Kotra L., Fridman R., Mobashery S. Matrix metalloproteinases: structure, evolution and diversification // FASEB J. – 1998. – №12. – P. 1075–1095.
- Shinmei M., Sanamori Y. The potential of cartilage markers in joint fluid for drug evaluation // Articular cartilage and osteoarthritis. – New York, 2004. – P. 597–609.
- Yu A.E., Hewitt R.F., Connor E.W., Stetler-Stevenson W.G. Matrix metalloproteinases. Novel targets for directed cancer therapy // Drugs Ageing. – 1997. – Vol.11, №3. – P. 229–224.

Представлено: Л.А.Страшок / Presented by: L.A.Strashok
Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky
Подано до редакції / Received: 29.08.2011