

Верификация роли цинка в патофизиологии хронической обструктивной болезни легких

В.И. ШЕВЦОВА, А.А. ЗУЙКОВА, А.Н. ПАШКОВ, Ю.А. КОТОВА, А.Н. ШЕВЦОВ

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава Российской Федерации, Воронеж, Россия

Резюме

Цель. Определение уровня цинка и его фракций, а также фермента нейтрофильной эластазы и альбумина у лиц, страдающих хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), и курящих активно и пассивно.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 30 пациентов с диагнозом ХОБЛ и 90 здоровых лиц (60 из них курили в настоящее время, 30 – нет), которым проведена спирометрия и определение уровней цинка и его пулов, альбумина и нейтрофильной эластазы. Все данные подвержены статистической обработке.

Результаты. Определено, что исследуемые параметры статистически значимо отличаются в группах курящих с ХОБЛ, здоровых курящих и некурящих, а также коррелируют с показателем объема форсированного выдоха за 1-ю секунду в процентах от должного.

Заключение. Выявленные закономерности делают возможным рассматривать введенный в исследование показатель «доля связанной фракции цинка» в качестве скринингового критерия при диагностике ХОБЛ у курящих лиц.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, скрининговая диагностика, курение, цинк.

Verification of zinc role in pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease

V.I. SHEVCOVA, A.A. ZUJKOVA, A.N. PASHKOV, Ju.A. KOTOVA, A.N. SHEVCOV

Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

Summary

Aim. Determination of the level of zinc and its fractions, as well as the enzyme neutrophilic elastase and albumin in persons suffering from chronic obstructive pulmonary disease (COPD), as well as smoking actively and passively.

Materials and methods. The study involved 30 patients with a diagnosis of COPD and 90 healthy persons (60 of them smoking at the present time, 30 – no) who underwent spirometry and determination of zinc levels and its pools, albumin, and neutrophil elastase. All data are subject to statistical processing.

Results. It is determined that the studied parameters differ significantly in the groups of smokers with COPD, healthy smokers and non-smokers, and correlate with the volume of forced exhalation for 1 second as a percentage of the due.

Conclusion. The revealed regularities make it possible to consider the indicator "share of bound zinc fraction" introduced in the study as a screening criterion in diagnosing COPD in smokers.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, screening diagnostics, smoking, zinc.

ММП – матриксные металлопротеиназы

НЭ – нейтрофильная эластаза

ОФV₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду

ФВД – функция внешнего дыхания

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

Известно, что курение является наиболее распространенным фактором риска развития хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [3]. На настоящий момент исследователями активно разрабатываются алгоритмы управления риском, связанного с потреблением табака, а также новые методы скрининговых исследований. Признанным и широко используемым в нашей стране скрининговым методом является спирометрия. Однако некоторые ученые подчеркивают, что этот метод не является универсальным и не всегда точно отражает тяжесть изменений в дыхательных путях [1, 2].

В связи с этим актуальным является поиск лабораторного или инструментального метода, который позволит определить наличие патологии дыхательных путей. Также к требованиям к новому маркеру можно отнести возможность отражения патологических изменений в «доклиническую» стадию заболевания, что позволит проводить грамотную программу профилактики и влиять на динамику заболевания.

На настоящий момент определены 3 ключевых компонента патогенеза ХОБЛ: хроническое воспаление, дисбаланс в системе ферментов протеолиза и антипротеолиза и

оксидативный стресс [4]. Основным пулом клеток, обеспечивающим воспаление, являются нейтрофилы. Нейтрофилы в большом количестве вырабатывают фермент нейтрофильную эластазу (НЭ), которая является активирующим фактором для большинства цинксодержащих матриксных металлопротеиназ (ММП). НЭ и ММП являются протеолитическими ферментами, их активность непосредственно обуславливает развитие заболевания [5]. Также цинк входит в состав молекулы фермента супероксиддисмутазы, основного компонента антиоксидантной защиты [6, 7]. Значимость данных ферментов при формировании ХОБЛ заставляет задуматься о роли микроэлемента цинка в патофизиологии ХОБЛ, а также о возможности его использования в качестве маркера при ранней диагностике заболевания.

В связи с вышеприведенным целью данной работы явилось измерение уровня НЭ (как фермента-активатора цинксодержащих ферментов), альбумина (как транспортера метаболически активной фракции цинка), общего уровня цинка и его фракций – пула свободного и связанного цинка для верификации использования этих показателей в ранней диагностике ХОБЛ.

Материалы и методы

Исследование выполнено на базе кафедры поликлинической терапии и общей врачебной практики ФГБОУ ВО «ВГМУ им. Н.Н. Бурденко», БУЗ ВО «Воронежская городская клиническая больница скорой медицинской помощи №8», ООО «Медицинский центр профессиональной патологии». В исследовании после заполнения анкеты информированного согласия приняли участие 30 пациентов с установленным диагнозом ХОБЛ II–III стадии, без сопутствующей патологии (20 мужчин и 10 женщин; средний возраст $55,8 \pm 6,78$ года), госпитализированных в декабре 2016–январе 2017 г., а также 90 здоровых лиц, прошедших периодический медицинский осмотр (48 мужчин и 42 женщины; средний возраст $43,7 \pm 7,17$ года). Данные спирометрии пациентов с верифицированным диагнозом ХОБЛ получены с использованием спирометра «Диамант».

Здоровые пациенты заполняли специально разработанную анкету для определения статуса курения. Далее активные курильщики вносили данные о количестве ежедневно выкуриваемых сигарет и продолжительности курения для расчета индекса курильщика. Те, кто в настоящее время не курил, отвечали на вопросы о курении в прошлом, а также о факте пассивного курения на улице, работе или дома. Также запрашивалось наличие хронической патологии (имеющие хронические заболевания исключались из исследования для верификации влияния курения на определяемые параметры). Функцию внешнего дыхания (ФВД) оценивали с помощью портативного спирометра Спиротест УСПЦ-1 (производства Россия) с определением объема форсированного выдоха за 1-ю секунду ($ОФВ_1$) и последующим расчетом показателей $ОФВ_1$ в % от должного. Всем пациентам производился забор крови.

Измерение общего уровня цинка проводили калориметрическим методом на приборе RAL Clima MC-15 с использованием наборов фирмы «Витал Девелопмент Корпорэйшн». В опытной пробе к 1,0 мл монореагента добавляли 0,05 мл сыворотки крови, в калибровочной пробе – 0,05 мл калибратора и в холостой пробе – 0,05 мл бидистиллированной воды. Далее фотометрировали при длине волны равной 560 нм и производили расчет по следующей формуле:

$$C = A_{оп}/A_{кал} \times 30,6 \text{ [мкмоль/л]},$$

где $A_{оп}$ – адсорбция опытной пробы, $A_{кал}$ – адсорбция калибровочной пробы; 30 мкмоль/л (167 мкг/100 мл) – концентрация железа в калибраторе.

Для измерения связанного цинка производилось осаждение белков трихлоруксусной кислотой, затем центрифугирование и измерение содержания цинка по описанной выше методике. Измерение уровня альбумина также производили с использованием наборов фирмы «Витал Девелопмент Корпорэйшн». Измерение уровня НЭ производили иммуноферментным методом с использованием наборов фирмы «Bender MedSystems» (Австрия).

Статистическую обработку данных производили с помощью программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 6.0 и использованием Н-критерия Краскела–Уоллиса, поскольку необходимо было сравнить четыре независимые выборки.

Сведения об авторах:

Зуйкова Анна Александровна – д.м.н., проф., зав. каф. поликлинической терапии и общей врачебной практики

Пашков Александр Николаевич – д.б.н., проф., зав. каф. биологии

Котова Юлия Александровна – к.м.н., ассистент каф. поликлинической терапии и общей врачебной практики

Шевцов Артем Николаевич – к.м.н., доцент каф. оперативной хирургии с топографической анатомией

Н-критерий Краскела–Уоллиса – это обобщение критерия Манна–Уитни на случай для более двух независимых выборок. Критерий не требует предположения о нормальности распределения. Нулевая гипотеза H_0 – между выборками существуют лишь случайные различия. Альтернативная гипотеза H_1 – между выборками существуют неслучайные различия по уровню исследуемого признака. Отличия между группами считались достоверными при $p \leq 0,05$. Также использован корреляционный анализ Спирмена с расчетом коэффициента ранговой корреляции (r). Коэффициент r интерпретировался следующим образом: очень слабая корреляционная связь ($0 < r < 0,3$), слабая корреляционная связь ($0,3 < r < 0,5$), средняя корреляционная связь ($0,5 < r < 0,7$), высокая корреляционная связь ($0,7 < r < 0,9$), очень высокая корреляционная связь ($0,9 < r < 1$).

Результаты

После анализа анкетных данных и результатов спирометрии (табл. 1) все исследуемые были разделены на 4 группы: 1-я – курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ ($n=35$, средний возраст $55,8 \pm 6,78$ года), 2-я – курящие с минимальными нарушениями ФВД ($ОФВ_1$ % от должного в пределах от 80 до 70%; $n=25$, средний возраст $45,6 \pm 5,79$ года), 3-я – курящие с сохранной ФВД ($n=30$, средний возраст $41,8 \pm 7,97$ года), 4-я – курящие пассивно ($n=30$, средний возраст $42,4 \pm 9,31$ года).

При проведении профилактического медицинского осмотра у 5 курящих пациентов, предъявляющих жалобы на кашель, выявлено снижение показателя $ОФВ_1$ % от должного менее 70%. Поэтому данные пациенты отнесены к группе 1 (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ).

На первом этапе у исследуемых лиц определены уровни НЭ как активатора ММП и альбумина как основного переносчика метаболически активной фракции цинка, способной принять участие в синтезе ферментов при необходимости (табл. 2).

Для сравнения полученных значений использован дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса для нескольких независимых групп. Выявлены статистические различия в уровне НЭ ($H=103,3279$, при $p=0,01$) и альбумина ($H=90,812$, при $p=0,01$) в различных группах.

Уровень НЭ у лиц из 1-й группы (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ) достоверно выше, чем в остальных группах, в связи с активными патофизиологическими изменениями с участием фермента. При этом уровень НЭ у курящих лиц (группа 2 – курящие лица с минимальными нарушениями ФВД и группа 3 – курящие с сохранной ФВД) достоверно не отличался. Также обращает на себя внимание тот факт, что уровень НЭ у некурящих лиц из 4-й группы (курящие пассивно) значимо ниже, чем у курящих группы 2 и 3. Выявленные закономерности можно интерпретировать как активацию системы протеолиза с участием НЭ.

При анализе содержания альбумина в крови исследуемых лиц выявлены следующие различия: уровень альбумина у здоровых курящих пациентов из группы 2 и 3 (2 – курящие лица с минимальными нарушениями ФВД и 3 – курящие с сохранной ФВД) достоверно выше, чем у лиц группы 1 (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ), что можно интерпретировать как активацию транспорта метаболически активного цинка для удовлетворения потреб-

Контактная информация:

Шевцова Вероника Ивановна – ассистент каф. поликлинической терапии и общей врачебной практики, e-mail: shevVI17@yandex.ru; тел.: 8(920)463-23-32

Таблица 1. Результаты спирометрии у лиц, принявших участие в исследовании

Группа	Статистические показатели	ОФВ ₁ , л	ОФВ ₁ % от должного, %
1-я (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ)	M±m	1,68±0,61	48,6±10,5
	min-max	0,91 –3,20	33,0 –69,0
2-я (курящие с минимальными нарушениями ФВД)	M±m	2,99±0,45	74,3±3,0
	min-max	2,04 –3,59	71,0 –79,0
3-я (курящие с сохранной ФВД)	M±m	3,01±0,63	84,8±3,6
	min-max	2,10-4,42	80,0 –96,0
4-я (курящие пассивно)	M±m	2,85±0,57	88,2±3,1
	min-max	82,0 –95,0	82,0 –95,0

Таблица 2. Уровни НЭ и альбумина в крови (в мкМоль) у исследуемых разных групп наблюдения

Показатель	Статистические показатели	Группа 1 (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ)	Группа 2 (курящие лица с минимальными нарушениями ФВД)	Группа 3 (курящие лица с сохранной ФВД)	Группа 4 (пассивно курящие лица)
НЭ	M±σ	127,72±14,70	91,60±9,34	80,47±8,21	47,51±12,19*
	min-max	99,0–156,0	79,1–110,2	62,1–90,4	29,9–72,0
Альбумин	M±σ	32,57±2,87	37,77±3,10	42,02±4,57	47,88±1,94**
	min-max	32,6–27,6	33,6–43,7	33,1–49,6	42,9–51,9

Примечание. *Различия уровня НЭ в исследуемых группах значимы при $p=0,001$; **различия уровня альбумина в исследуемых группах значимы при $p=0,001$. Статистическая обработка проведена с использованием Н-критерия Краскела–Уоллиса.

ности в микроэlemente для синтеза ферментов, которые обуславливают патогенетические изменения в дыхательных путях.

С целью подтверждения значимости полученных показателей для патофизиологических реакций при формировании ХОБЛ выполнен корреляционный анализ Спирмена с расчетом коэффициентов ранговой корреляции.

Основной эффект НЭ в случае дизрегуляции ее активности – это протеолитическое действие на субстрат. Отмечена активность НЭ при различных заболеваниях – значимость действия НЭ признана в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертензия, атеросклероз), эндокринной (сахарный диабет типа 2), бронхолегочной (муковисцидоз, острый респираторный дистресс-синдром, бронхоэктатическая болезнь, ХОБЛ) [8].

Для верификации значимости изменений показателя НЭ при формировании обструкции дыхательных путей, сопровождающейся изменением ФВД, была исследована зависимость показателя НЭ и ОФВ₁ % от должного (рис. 1). Выявлена достоверная высокая отрицательная корреляционная связь ($r = -0,91$, $p = 0,01$). В ходе корреляционного анализа получено следующее уравнение:

$$ОФВ_1 \% = 209,243 - 1,6586 \times NE,$$

где NE – НЭ.

Выявленные закономерности подтверждают роль НЭ в формировании патогенетических изменений в дыхательных путях больных ХОБЛ.

При исследовании закономерностей изменения показателей альбумина, НЭ и ОФВ₁ % от должного выявлена достоверная сильная корреляционная связь и получены следующие корреляционные уравнения:

$$Albumin = 56,2075 - 0,1853 \times NE \quad (r = -0,89, \text{ при } p = 0,01),$$

$$ОФВ_1 \% = -15,7116 + 2,224 \times Albumin \quad (r = 0,84, \text{ при } p = 0,01),$$

где $Albumin$ – альбумин, NE – НЭ.

На следующем этапе проанализирован уровень цинка и его фракций. Также определен показатель «доля связанной фракции цинка» для верификации изменений в пулах цинка, а именно перехода части свободного пула в пул связанного (метаболически активного, необходимого для синтеза цинксодержащих ферментов; табл. 3).

При статистической обработке полученных результатов выявлены достоверные различия исследуемых показателей в группах ($N=92,322$, при $p=0,01$ для общего цинка, $N=90,355$, при $p=0,01$ – для связанной фракции, $N=99,748$, при $p=0,01$ – для свободной фракции, $N=104,523$, при $p=0,01$ – для связанной фракции цинка), причем общий уровень цинка снижается, а показатель «доля связанной фракции цинка» возрастает в группах параллельно снижению показателя ОФВ₁ % от должного ($r > 85\%$, при $p < 0,05$) (рис. 2).

Обсуждение

Полученные в ходе исследования результаты представляют интерес для врачей первичного звена, которые являются первым и основным звеном в обеспечении ранней диагностики ХОБЛ. Спирометрия, используемая в настоящее время как основной метод скрининга, отражает изменения функции легких на клинически выраженной стадии заболевания. Однако представляется ясным, что наиболее эффективно будет выявление изменений ФВД на доклинической стадии у лиц из групп риска – активных курильщиков.

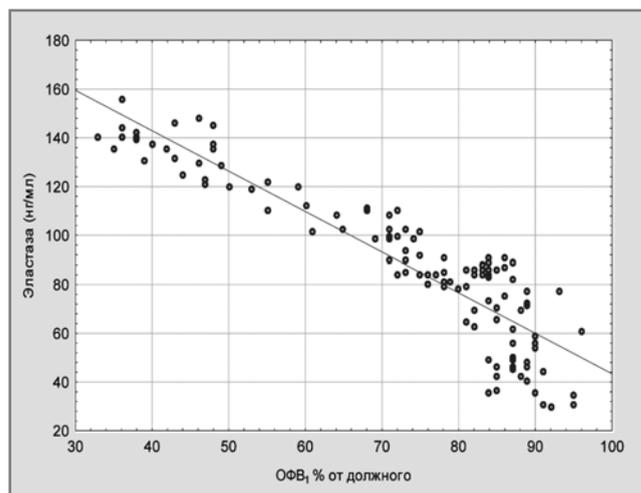
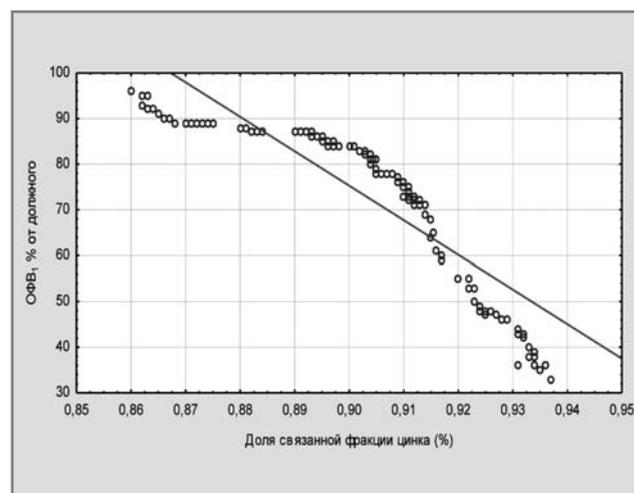
Гипотеза о значимости цинка как показателя, отражающего патогенетические изменения при ХОБЛ, подтверждена следующими выявленными в ходе исследования закономерностями.

Значения процентного содержания связанной фракции цинка достоверно отличаются у курящих лиц и некурящих,

Таблица 3. Уровни фракций цинка в крови (в мкМоль) у исследуемых разных групп наблюдения

Показатель	Статистические показатели	Группа 1 (курящие пациенты с диагнозом ХОБЛ)	Группа 2 (курящие лица с минимальными нарушениями ФВД)	Группа 3 (курящие лица с сохранной ФВД)	Группа 4 (пассивно курящие лица)
Общий уровень цинка	M±σ	11,60±2,62	15,54±1,52	17,50±2,54	22,49±2,17*
	min-max	6,98 –18,20	12,30 –17,90	13,60 –23,40	19,10 –27,00
Связанная фракция цинка	M±σ	10,73±2,35	14,14±1,37	15,65±2,14	19,74±1,63**
	min-max	6,50 –16,63	11,17 –16,20	12,28 –20,60	17,25 –23,27
Свободная фракция цинка	M±σ	0,87±0,28	1,40±0,15	1,86±0,46	2,75±0,56***
	min-max	0,48 –1,57	1,11 –1,70	1,32 –3,23	1,85 –3,73
Доля связанной фракции цинка	M±σ	92,6±0,7	91,0±0,2	89,5±1,2	87,9±1,3****
	min-max	91,4 –93,7	90,5 –91,4	86,0 –90,5	86,2 –90,3

Примечание. *Различия уровня связанного цинка в исследуемых группах значимы при $p=0,001$; **различия уровня свободного цинка в исследуемых группах значимы при $p=0,001$, ***различия уровня свободного цинка в исследуемых группах значимы при $p=0,001$, **** различия уровня свободного цинка в исследуемых группах значимы при $p=0,001$. Статистическая обработка проведена с использованием Н-критерия Краскела–Уоллиса.

Рис. 1. Диаграмма рассеяния для показателей «НЭ» и «ОФВ₁ % от должного».Рис. 2. Диаграмма рассеяния для показателей «ОФВ₁ % от должного» и «доля связанной фракции цинка».

а также у курящих с нормальной и сниженной ФВД. Показатель «доля связанной фракции цинка» введен для верификации перехода свободного цинка в пул связанного. Он отражает потребность в цинке для синтеза цинксодержащих ферментов, которыми являются ММП. Ферментом-активатором ММП является НЭ, чей уровень в нашем исследовании также достоверно отличается у курящих и некурящих, а также у лиц с нормальной и сниженной ФВД. Белком-транспортером метаболически активного цинка для синтеза активированных НЭ цинксодержащих металлопротеиназ является альбумин. Различия в уровне альбумина аналогичны различиям НЭ и доли связанной фракции цинка. Корреляция исследуемых показателей с ОФВ₁ % от должного подчеркивает их значимость при снижении ФВД (единственным объективным критерием формирования ХОБЛ).

Полученные результаты подчеркивают значимость патофизиологических изменений у лиц из групп риска формирования ХОБЛ и делают возможным использование по-

казателя «доля связанной фракции цинка» при скрининговой диагностике курящих лиц.

Заключение

В ходе исследования выявлены достоверные статистически значимые различия в уровне НЭ, альбумина, а также общем уровне цинка и его пулов. Определены корреляционные уравнения с участием исследуемых показателей и показателя ОФВ₁ % от должного ($r>85\%$, при $p<0,05$), что свидетельствует о значимости исследуемых параметров в патогенезе ХОБЛ. Полученные корреляционные уравнения, описывающие зависимость введенного в исследовании параметра «доля связанной фракции цинка» и объективного критерия ХОБЛ – ОФВ₁ в % от должного, делают возможным рассматривать этот показатель в качестве скринингового критерия при диагностике ХОБЛ у курящих лиц.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Айсанов З.Р., Черняк А.В., Калманова Е.Н. Спирометрия в диагностике и оценке терапии хронической обструктивной болезни легких в общеврачебной практике. *Пульмонология*. 2014; 5: 101-110. [Aysanov ZR, Chernyak AV, Kalmanova EN. Spirometry for diagnosis and therapeutic efficacy evaluation in chronic obstructive pulmonary disease in primary care. *Pulmonologiya*. 2014; (5): 101-110. (In Russ.)] <http://doi.org/10.18093/0869-0189-2014-0-5-101-110>
2. Agustí A, Sobradillo P, Celli B. Addressing the complexity of chronic obstructive pulmonary disease: from phenotypes and biomarkers to scale free networks, systems biology, and medicine. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2011; 183:1129-1137.
3. Синцова С.В., Чичерина Е.Н. Табакокурение – эпидемия XXI века. *Туберкулез и болезни легких*. 2011; 3:8-11. [Sintsova SV, Chicherina EN. Tobacco-epidemic of the XXI century. *Tuberkulez i bolezni legkikh*. 2011; 3: 8-11. (In Russ.)]
4. Черняев А.Л., Самсонова М.В. Воспаление при хронической обструктивной болезни легких: молекулярные основы патогенеза *Consilium medicinum*. 2011; 5 (1): 9-14. [Chernyaev AL, Samsonova MV. The inflammation in chronic obstructive lung disease: the molecular basis of pathogenesis. *Consilium medicinum*. 2011; 5 (1):9-14. (In Russ.)]
5. Gaur SN, Goel N. Systemic Manifestations of COPD. *Medicine Update*. 2012; 22: 386-389.
6. Prasad AS. Zinc is an oxidant and anti-inflammatory agent: its role in human health. *Frontiers in nutrition*. 2014;1(14): 1-10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2014.00014>
7. Котова Ю.А., Зуйкова А.А., Страхова Н.В., Чернов А.В. Влияние цинка сульфата на состояние антиоксидантной системы у больных с артериальной гипертензией. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2015; 14(S2): 142. [Kotova JuA, Zujkova AA, Strahova NV, Chernov AV. Influence of sulfate zinc on a condition of antioxidant system at patients with arterial hypertension. *Kardiovaskuljarnaja terapija i profilaktika*. 2015; 14 (S2): 142. (In Russ.)]
8. Шупакова А.Н., Окулич В.К., Беляева Л.Е., Прудников А.Р. Протеолитическая активность нейтрофильной эластазы как прогностический фактор развития заболеваний сердечно-сосудистой системы. *Вестник ВГМУ*. 2016; 15 (2): 17-26. [Shchupakova AN, Okulich VK, Belyaeva LE, Prudnikov AR. Proteolytic activity of neutrophilic elastase as a prognostic factor of cardiovascular diseases development. *Vestnik VGMU*. 2016; 15 (2): 17-26. (In Russ.)] <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2016.2.17>

Поступила 19.07.2017