

Н.А.Дидковский, М.А.Жарова, Н.А.Каблашова, И.К.Малашенкова

Случай множественных генетических нарушений в различных системах защиты легких

ФГУ "НИИ физико-химической медицины" ФМБА России: 119992, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а

N.A.Didkovsky, M.S.Zharova, N.A.Kablashova, I.K.Malashenkova

A case of multiple genetic lesions in different systems of the lung defense

Key words: bulleous lung disease, genetic lesions, metalloproteinases, surfactant proteins, epoxide hydrolase.

Ключевые слова: буллезная болезнь легких, генетические дефекты, металлопротеиназы, белки сурфактанта, эпоксидгидролаза.

В последние годы широко обсуждается роль генетической предрасположенности в патогенезе хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). Сегодня, благодаря внедрению молекулярно-генетических исследований в клиническую практику, мы имеем возможность определять хромосомную локализацию и полиморфизм конкретных генов, ответственных за формирование предрасположенности к различным полигенным заболеваниям. Патогенные мутации в этих генах не всегда приводят к заболеванию, но при этом риск его развития повышается. Современные данные о патогенетических механизмах ХОБЛ позволяют рассматривать в качестве кандидатов — гены, кодирующие компоненты системы протеолиз—антипротеолиз, антиоксидантной защиты, сурфактантные белки, клеточные медиаторы воспаления и апоптоза, ферменты биотрансформации ксенобиотиков и др. [1, 2].

На сегодняшний день к наиболее изученным наследственным генетическим факторам риска развития ХОБЛ относят недостаточность α_1 -антитрипсина (α_1 -АТ). α_1 -АТ принадлежит к суперсемейству ингибиторов сериновых протеаз — серпинам, и его основной функцией является инактивация широкого спектра протеаз, в т. ч. эластазы нейтрофилов (НЭ). При нормальном содержании α_1 -АТ в сыворотке крови поддерживается такое соотношение α_1 -АТ / НЭ, при котором избыток эластазы, продуцируемый активированными нейтрофилами в очаге воспаления, может быть инактивирован адекватным увеличением продукции α_1 -АТ. При дефиците α_1 -АТ это равновесие нарушается, и соотношение α_1 -АТ / НЭ сдвигается в сторону увеличения количества НЭ [2]. В такой ситуации избыток эластазы приводит к необратимой деструкции эластических волокон, развитию эмфиземы и обструктивных явлений.

Известно, что свой вклад в деграцию альвеолярных стенок при эмфиземе, помимо НЭ, вносят и другие группы протеаз. В первую очередь, это матриксные металлопротеиназы. Семейство матриксных металлопротеиназ (ММП) представлено > 20 цинк- и кальций-зависимыми эндопептидазами,

способными расщеплять почти все компоненты экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ). Действие ММП подавляется тканевыми ингибиторами ММП (ТИМП). Существует мнение, что в основе патогенеза ХОБЛ может лежать дисбаланс между ММП и ТИМП [4].

Матриксные металлопротеиназы, в отличие от сериновых протеаз, выделяются в межклеточное пространство в неактивной форме. Для активации ММП необходима НЭ [4]. В тоже время известно, что ММП подавляют активность α_1 -АТ [5], в результате чего соотношение α_1 -АТ / НЭ сдвигается в пользу НЭ. Кроме того, НЭ способна как непосредственно разрушать эластин, так и через активацию ММП опосредованно влиять на деструкцию других компонентов ЭМЦ (коллагена и желатина). Так же известно, что ММП12 (макрофагальная металлоэластаза) способствует высвобождению фактора некроза опухоли- α макрофагами, что приводит к мобилизации нейтрофилов и выработке ими НЭ. Таким образом, системы сериновых и матриксных металлопротеиназ оказывают синергическое деструктивное влияние на компоненты экстрацеллюлярного матрикса.

ММП1 (интерстициальная коллагеназа) способна деградировать коллаген I, II и III типов, минорные коллагены VII и X типов, казеин, α_2 -макроглобулин, белки ЭЦМ — энтактин и агрикан. В настоящее время известно, что ММП1 синтезируется рядом клеток: нормальными и трансформированными фибробластами, хондроцитами, эпителиальными клетками и макрофагами. Рядом исследований было продемонстрировано, что полиморфизм 1 607 (delG) гена ММП1 связан с увеличением уровня экспрессии гена. Также было показано, что полиморфизм 1607 (delG) гена ММП1 ассоциирован с нарушениями функции легких [2].

ММП12 синтезируется макрофагами, и ее синтез стимулируется липополисахаридами. ММП12 гидролизует эластин. Известно, что результатом полиморфизма ММП12-82 (A>G) является увеличение аффинности к белку-активатору фактора транскрипции-1 (AP-1) и, как следствие, более высокая

экспрессия гена. Данная 1-нуклеотидная замена ассоциирована с астмой у детей и взрослых курильщиков [6] и риском развития ХОБЛ у взрослых курильщиков [7]. В литературе имеются сведения о том, что галлотип гена MMP12, составленный из полиморфизмов 82 (A>G) и N357S (A>G), ассоциирован с увеличенной продукцией MMP12 и может вносить свой вклад в развитие ХОБЛ [7].

Многочисленные исследования показывают, что сочетание полиморфизмов различных генов оказывает большее влияние на развитие заболевания, чем нарушение в 1 гене. Так, в результате проведенного исследования [7] было показано, что сочетание полиморфизмов 1 607 (delG) MMP1 и N357S (A>G) гена MMP12 коррелирует с быстрым снижением функции легких.

Легочный сурфактант – сложная смесь фосфолипидов (фосфатидилхолин, фосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол и липопротеины), которую синтезируют, хранят и секретируют альвеолоциты II типа. Сурфактантный протеин С (SFTPC) – это трансмембранный белок, синтезируемый и секретируемый как компонент легочного сурфактанта. Гидрофобный белок сурфактанта С, играющий важную роль в формировании, организации и функционировании сурфактантной "пленки", необходим для стабилизации альвеол и равномерного распределения сурфактанта. Мутации в гене, кодирующем SFTPC, ассоциированы с различными вариациями семейной интерстициальной легочной пневмонии, включая идиопатический легочный фиброз [8] и неспецифическую интерстициальную пневмонию у взрослых и детей [9, 10]. На сегодняшний день описаны и изучаются значимые, сцеплено наследуемые полиморфизмы N138T (A>C) и N186S (A>G) в гене SFTPC. Известно, что снижение или отсутствие активности гена SFTPC связано с прогрессирующей болезнью легких (в частности, у новорожденных) самых разных типов. Так, мутации N138T (A>C) и N186S (A>G) ассоциированы с респираторным дистресс-синдромом в период ранней новорожденности и, как следствие, являются основным фактором риска развития бронхолегочной дисплазии [11].

Считается, что существенный вклад в развитие ХОБЛ вносит оксидативный стресс, связанный с выработкой активных форм кислорода клетками воспаления, в первую очередь – нейтрофилами и макрофагами [12]. При ряде патологических состояний возникает дисбаланс в системе оксиданты–антиоксиданты, что ведет к развитию "оксидативного стресса", т. е. формируется ситуация при которой выделяется большое, значительно превышающее физиологические потребности, количество свободных радикалов, обладающих мощным повреждающим действием. В защите легких от вдыхаемых токсичных продуктов и активных форм кислорода важную роль играют ферменты системы биотрансформации ксенобиотиков, в т. ч. микросомальная эпоксидгидролаза, кодируемая геном ERHX1. Процесс детоксикации обычно включает в себя 2 последовательные фазы. В 1-й фазе детоксикации посту-

пающие в организм чужеродные соединения (канцерогены, лекарства, промышленные яды и пр.) активируются с помощью ферментов семейства цитохромов или микросомальных эпоксидгидролаз, образуя коротко живущие промежуточные электрофильные метаболиты, которые обладают генотоксическими свойствами. Затем, в процессе 2-й фазы, эти промежуточные метаболиты с помощью ферментов семейств глутатионтрансфераз, УДФ-глюкуронсульфотрансфераз, N-ацетилтрансфераз превращаются в водорастворимые нетоксичные продукты и выводятся из организма. Известны 2 функционально значимых полиморфизма гена ERHX1 в 3-м (T-337C) и 4-м (A-415G) экзонах, приводящие к аминокислотным заменам Y113H (T>C) и H139R (A>G) соответственно, что изменяет свойства фермента [13]. Полиморфизм T-337C ответственен за снижение активности фермента на 50 % ("медленный" аллель), а полиморфизм A-415G – за повышение активности примерно на 25 % ("быстрый" аллель). Минорные варианты указанных полиморфизмов чаще выявляются у пациентов с ХОБЛ.

Приводим описание клинического случая.

Больной И. 40 лет, бизнесмен, поступил в клинику 24.12.09 с жалобами на кашель с отделением слизисто-гноной мокроты, повышение температуры тела до 38 °С, боли в грудной клетке при дыхании и кашле, выраженную слабость, потливость, снижение аппетита, жажду.

Из анамнеза заболевания: в марте 2009 г. после ОРЗ появился сухой кашель, не проходящий в течение 1,5 мес. Больной обратился в АО "Медицина", где ему был поставлен диагноз: бронхит. После назначения муколитических средств (АЦЦ), бронхолитика титропия бромида (Спирива) и антибактериальной терапии фторхинолом левофлоксацином (Таваник) в среднетерапевтических дозах наблюдалось улучшение состояния, кашель прекратился. В течение лета больной чувствовал себя хорошо. В октябре 2009 г. вновь появился сухой кашель, повысилась температура тела до субфебрильных значений, через месяц присоединилось обильное ночное потоотделение. К врачу больной не обращался, лечение не проводилось. На этом фоне в середине декабря 2009 г. у больного внезапно повысилась температура тела до 39,5–40 °С, которая сопровождалась заложенностью носа, затруднением носового дыхания со светлым слизистым отделяемым из носа, першением и болью в горле, сухой кашель сменился влажным со слизистой мокротой. Участковым терапевтом был поставлен диагноз грипп. Больному назначена противовирусная терапия осельтамивиром (Тамифлю) в течение 5 дней. На 6-й день, в связи с сохраняющейся высокой температурой (38–39 °С), больной обратился в АО "Медицина" (со слов больного, в крови определялся лейкоцитоз, микробиологическое исследование мокроты не проводилось), где пациенту вновь был назначен антибиотик левофлоксацин (Таваник) 500 мг в сутки в течение 10 дней. Улучшение состояния у больного не наступило: температура тела не снижалась, усилились слабость, жажда (выпивал до 3 л жидкости в день), кашель, характер мокроты изменился до слизисто-гнойного. Через 3 дня, после окончания антибактериальной терапии, с температурой 38 °С и болью в грудной клетке при дыхании и кашле больной госпитализирован в ГКБ № 7 для обследования и лечения.

Вредные привычки. Больной не курит, алкоголем не злоупотребляет.

Из перенесенных заболеваний. В возрасте 7 лет перенес вирусный гепатит А.

Считал себя здоровым до 36 лет. В 36 лет после подводного погружения на глубину 32 м развился левосторонний пневмоторакс, госпитализирован в НИИ СП им. Н.В.Склифосовского, где была обнаружена буллезная болезнь легких. Рекомендовано оперативное лечение. 30.06.05 в отделении торакальной хирургии НМХЦ им. Н.И.Пирогова произведена видеоторакоскопия с краевой резекцией 6-го сегмента правого легкого с буллой и резекция

буллы 8-го сегмента левого легкого; механический и химический плевродез. На серии компьютерных томографий органов грудной клетки (КТ ОГК) до операции (рис. 1А–В) определялись воздушные полости в обоих легких.

На КТ органов грудной клетки после операции (рис. 2) в 6-м сегменте правого легкого определялась воздушная полость с толстыми стенками (булла) диаметром около 1 см.

При поступлении. Состояние средней тяжести. Кожные покровы – гипергидроз. Носовое дыхание свободное. Частота дыхания – 20 в минуту. Перкуторно над легкими выслушивается легочный звук с коробочным оттенком. Дыхание жесткое, единичные сухие хрипы. Тоны сердца приглушены, шумов нет, ритм правильный, частота сердечных сокращений – 88 в минуту. Артериальное давление – 140 / 90 мм рт. ст. Язык влажный, у корня обложен белым налетом. Живот мягкий, при пальпации чувствительный в правом подреберье. Печень увеличена на 2,5 см.

Микробиологическое исследование (от 24.12.05). Посев крови: роста нет. Посев мокроты: *Streptococcus pneumoniae* – 10^5 КОЕ / мл (чувствительность к цефтриаксону, оксацилину, рифампину, ванкомицину, сульперазону); *Candida sp.* – 10^5 КОЕ / мл.

Общий анализ крови (от 25.12.05). Гемоглобин – 137 г / л; лейкоциты – $7,05 \times 10^9$ / л; эритроциты – $4,93 \times 10^{12}$ кл / л; тромбоциты – 319×10^9 / л; нейтрофилы – 48 %; эозинофилы – 3 %; базофилы – 1 %; лимфоциты – 33 %; моноциты – 14 %; СОЭ – 36 мм / ч.

Биохимический анализ крови (от 25.12.05). Аспартатаминотрансфераза (АСТ) – 93 ед. / л, аланинаминотрансфераза (АЛТ) – 189 ед. / л, щелочная фосфатаза (ЩФ) – 157 ед. / л, ЛДГ – 506 ед. / л, креатинфосфокиназа (КФК) – 247 ед. / л, гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ) – 102 ед. / мл. Остальные показатели – без особенностей.

ВИЧ, RW, HbsAg и Anti-HCV не обнаружены.

Общий анализ мочи (от 25.12.05) – без особенностей.

При исследовании функции внешнего дыхания от 27.12.05 нарушений не обнаружено.

Рентгенологическое исследование (от 25.12.09). Усиление легочного рисунка за счет интерстициального компонента, пневмосклероз, эмфизема легких. В нижних долях обоих легочных полей – наличие операционных скоб. Корни легких расширены, уплотнены. Свежих очаговых теней не выявлено. Заключение: рентгенологическая картина ХОБЛ.

На КТ органов грудной клетки от 28.12.09 динамики не обнаружено.

УЗИ брюшной полости. УЗИ-признаки гепатоспленомегалии, диффузных изменений в печени и поджелудочной железе на осмотренных участках, деформация, холестероз желчного пузыря.

Учитывая наличие в анамнезе у больного буллезных образований в обоих легких, осложнившихся развитием спонтанного пневмоторакса, а также затяжное течение обострений хронического бронхита у некурящего пациента, было проведено генетическое исследование на наличие ряда полиморфизмов, являющихся факторами риска развития первичной эмфиземы легких и ХОБЛ.

Анализ генетических полиморфизмов. Было проведено исследование ряда генов, участвующих в формировании предрасположенности к ХОБЛ. Выявлены 2 гомозиготных полиморфизма в гене сурфактантного протеина С (SFTPC N138T CC и SFTPC N186S GG), гетерозиготный полиморфизм в гене матриксной металлопротеиназы-12 (MMP12-82 AG), а так же гетерозиготный полиморфизм в гене микросомальной эпоксидгидролазы (EPHX1 Y113H TC). Нарушений в гене матриксной металлопротеиназы-1 (MMP1 1607 delG) и системе α_1 -антитрипсина обнаружено не было.

Установлен диагноз: обострение хронического бронхита затяжного течения бактериальной этиологии (*Streptococcus pneumoniae*) на фоне буллезной эмфиземы легких с развитием пневмоторакса; состояние после видеоторакоскопии с краевой резекцией 6-го сегмента правого легкого с буллой и резекцией буллы 8-го сегмента левого легкого; генетическая предрасположенность к развитию хронических бронхолегочных заболеваний; токсический гепатит.

Больному была проведена комплексная терапия антибиотиками, цефалоспорином III поколения (Цефотаксим) и антибиотиком из группы линкозамидов (Линкомицин), антиоксидантами (Мексидол внутримышечно; Аевит), муколитиками (Флуимуцил или АЦЦ); гепатопротекторами (Фосфоглив, Гептрал) антимиотиками (флюконазоном).

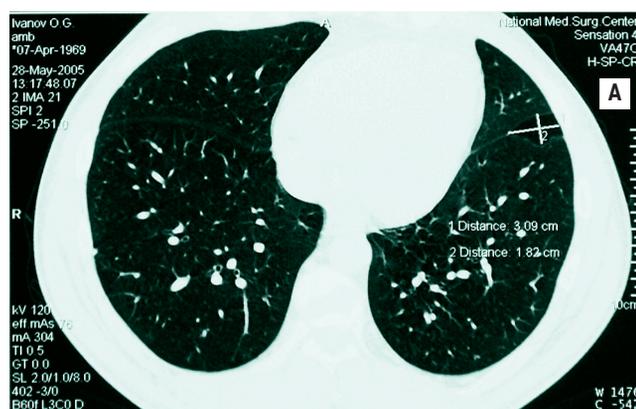


Рис. 1. КТ ОГК до операции (28.05.05)

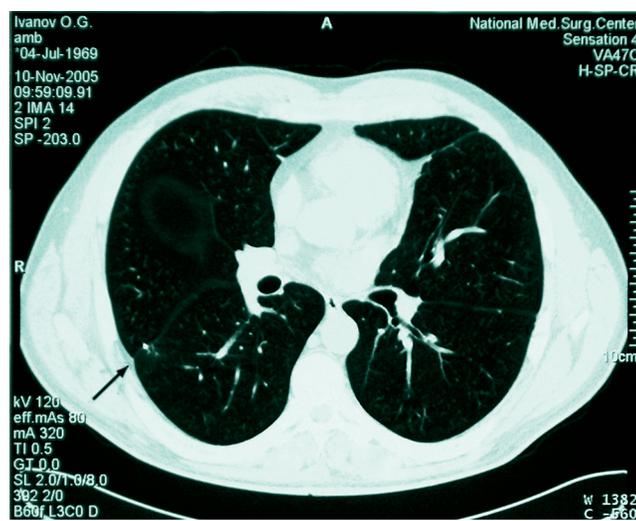


Рис. 2. КТ ОГК после операции (10.11.05)

В результате проведенной терапии состояние больного улучшилось: кашель стал редким; мокроты, одышки, болей в грудной клетке не стало. Однако у больного сохранялись субфебрильная температура тела (до 37,2 °С) в вечерние часы, осиплость голоса, сухой поверхностный кашель, умеренная потливость. Данные симптомы были расценены как проявление затяжной респираторной вирусной инфекции, и к лечению было решено присоединить противовирусный препарат – рекомбинатный интерферон альфа (Виферон).

Больному было предложено продолжить прием антиоксидантов, гепатопротекторов, а также провести курс терапии рекомбинатным интерфероном альфа (3 млн ед.) по схеме в течение месяца.

С целью профилактики дальнейшего развития проявлений ХОБЛ пациенту рекомендовано проводить своевременную комплексную терапию обострений респираторных инфекций, он предупрежден о вреде курения, в т. ч. пассивного. Рекомендовано не контактировать со вредными химическими веществами во избежание их вдыхания. Не рекомендовано заниматься подводными погружениями, а в условиях высокогорья желательна постепенная и длительная адаптация без интенсивных физических нагрузок. Также необходимо избегать тяжелых физических нагрузок, особенно статического характера (подъем тяжестей). В то же время желательны умеренные физические нагрузки динамического характера (плавание, бег, езда на велосипеде и др.). Рекомендовано проведение семейного генетического исследования, особенно обследование детей пациента для проведения им при необходимости всего комплекса профилактических мероприятий.

Через месяц после выписки у пациента нормализовалась температура, исчезла общая слабость, кашель, осиплость голоса.

Таким образом, у больного с обострением хронического бронхита затяжного течения на фоне буллезной эмфиземы легких с развитием пневмоторакса в анамнезе выявлены множественные дефекты в ряде генов, участвующих в различных системах защиты легких. Известно, что 2 гомозиготных полиморфизма в гене сурфактантного протеина С (SFTPC N138T CC и SFTPC N186S GG), обнаруженные у данного больного, являются значимыми и способны оказывать влияние на развитие и течение ХОБЛ. Кроме того, в литературе имеются сведения, что данные 1-нуклеотидные замены могут быть ассоциированы с хроническими интерстициальными заболеваниями легких, возникающими впервые или имеющими семейный анамнез [1]. Выявленный у нашего пациента дефект в гене, кодирующем компоненты системы протеолиз–антипротеолиз, а именно гетерозиготный полиморфизм в гене матриксной металлопротеиназы-12 (MMP12-82 AG), ассоциирован с увеличенной продукцией MMP12 и может также вносить свой вклад в развитие ХОБЛ [7]. Обнаруженный у пациента гетерозиготный полиморфизм в гене микросомальной эпоксидгидролазы (EPHX1 Y113N TC) может моделировать активность данного фермента и, таким образом, вызывать дисбаланс в системе оксиданты–антиоксиданты. Таким образом, у нашего больного имели место генетические дефекты в различных системах защиты легких (легочный сурфактант, антипротеазная система, антиоксидантная система), что может лежать в основе генетической предрасположенности к ХОБЛ.

Важно отметить, что у больного развился токсический гепатит. Можно полагать, что факторами, способствующими развитию токсического гепатита, явились комбинированная антибактериальная терапия, наличие тяжелой респираторной вирусной инфекции, наличие гепатита А в анамнезе, а также полиморфизм в гене микросомальной эпоксидгидролазы (EPHX1

Y113N TC). Как известно, данный полиморфизм способен нарушать процесс биотрансформации ксенобиотиков (в т. ч. антибактериальных препаратов), что может усиливать их токсическое действие [13].

Заметное улучшение состояния больного (исчезла выраженная общая слабость, повышенное потоотделение в ночное время, осиплость голоса, нормализовалась температура) было достигнуто только при дополнительном назначении противовирусной терапии.

Литература

1. Sandford A.J., Joos L., Pare P.D. Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2002; 8 (2): 87–94.
2. Wood A., Stockley R. The genetics of chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Res.* 2006; 7 (1): 130–144.
3. Дидковский Н.А., Жарова М.А. Наследственные факторы при болезнях органов дыхания. *Пульмонология* 2005; 4: 53–60.
4. Shapiro S.D., Goldstein N.M., Houghton A.M. et al. Neutrophil elastase contributes to cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Am. J. Pathol.* 2003; 163 (6): 2329–2335.
5. Аверьянов А.В. Роль нейтрофильной эластазы в патогенезе хронической обструктивной болезни легких. *Цитокины и воспаление* 2007; 6 (4): 3–8.
6. Brusselle G. Matrix metalloproteinase 12, asthma, and COPD. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361 (27): 2599–2608.
7. Hunninghake G.M., Cho M.H., Tesfaigzi Y. et al. MMP12, lung function, and COPD in high-risk populations. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361 (27): 2599–2608.
8. Lawson W.E., Grant S.W., Ambrosini V. et al. Genetic mutations in surfactant protein C are a rare cause of sporadic cases of IPF. *Thorax.* 2004; 59 (11): 977–980.
9. Harlt D., Griesse M. Interstitial lung disease in children – genetic background and associated phenotypes. *Respir. Res.* 2005; 6 (1): 32–48.
10. Nogee L.M., Dunbar A.E. 3rd, Wert S.E. et al. A mutation in the surfactant protein C gene associated with familial interstitial lung disease. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344 (8): 573–579.
11. Lahti M., Marttila R., Hallman M. Surfactant protein C gene variation in the Finnish population – association with perinatal respiratory disease. *Eur. J. Hum. Genet.* 2004; 12 (4): 312–320.
12. Черняев А.Л., Самсонова М.В. Воспаление при хронической обструктивной болезни легких: молекулярные основы патогенеза. *Consilium Medicum* 2008; 10 (10): 57–63.
13. Hu G., Shi Z., Hu J. et al. Association between polymorphisms of microsomal epoxide hydrolase and COPD: results from meta-analyses. *Respirology* 2008; 13 (6): 837–850.

Информация об авторах

Дидковский Николай Антонович – д. м. н., проф., заслуженный врач России, зав. лабораторией клинической иммунологии ФГУ "НИИ физико-химической медицины" ФМБА России; сл. тел.: 8-499-782-33-39, e-mail: didkovski@rambler.ru

Жарова Мария Алиевна – к. б. н., науч. сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГУ "НИИ физико-химической медицины" ФМБА России; тел.: (499) 782-33-25, e-mail: marusia.v@gmail.com

Каблашова Наталья Александровна – ст. ординатор отделения иммуноотерапии и детоксикации, врач высшей категории ФГУ "НИИ физико-химической медицины" ФМБА России; тел.: (499) 782-33-25, e-mail: vladkom@mail.ru

Малашенкова Ирина Константиновна – ст. науч. сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГУ "НИИ физико-химической медицины" ФМБА России; тел.: (499) 782-33-25, e-mail: didkovski@rambler.ru

Поступила 07.09.10
© Коллектив авторов, 2011
УДК 616.24-02:616-056.7