

© А.С. Алипбекова, А.И. Анамбаева

*Казахский Национальный Медицинский Университет  
им. С.Д. Асфендиярова,*

*г. Алматы, Казахстан*

## **ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЛЛИКРЕИН-КИНИНОВОЙ СИСТЕМЫ В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТА «ШОКОВОГО» ЛЕГКОГО**

**Аннотация.** В статье представлены материалы по изменению калликреин-кининовой системы при моделировании экспериментального «шокового» легкого. Исследование состояния калликреин-кининовой системы и познания их роли в патогенезе «шокового» легкого остаются актуальной проблемой, поскольку очень часто данная патология приводит к развитию полиорганной недостаточности с неблагоприятным исходом для больного. Нами изучена динамика изменений калликреина, прекалликреина, БАЭЭ-эстеразы и  $\alpha_2$ -макроглобулина на введение олеиновой кислоты. В динамике развития «шокового» легкого регистрируется своеобразное изменение в содержании калликреина: в ранние сроки оно достоверно не отличается от контрольных значений, а в поздние периоды достоверно повышается, то есть проявляется обратнопропорциональная зависимость с активностью БАЭЭ-эстеразы. Результаты исследований могут стать основой для разработки новых подходов к коррекции и лечению данной патологии.

**Ключевые слова:** калликреин-кининовая система, динамика развития «шокового» легкого.

© A.S. Alipbekova, A.I. Anambayeva

*Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov,*

*Almaty, Kazakhstan*

## **CHANGES OF THE INDICES OF THE KALLIKREIN- KININ SYSTEM IN THE DYNAMICS OF THE EXPERIMENTAL «SHOCK» LUNG**

**Abstract.** The article presents the materials of the changes of the kallikrein-kinin system in modeling of the experimental «shock» lung. The investigation of the condition of the kallikrein-kinin system and its role in the pathogenesis of «shock» lung is an up-to-date problem as this pathology leads to the development of multiple organ failure with an unfavourable outcome to a patient. We studied the dynamics of the changes of kallikrein, prekallikrein, BAEE-esterases and  $\alpha_2$ -macroglobulin against the background of oleic acid introduction. The dynamics of the development of the experimental «shock» lung shows changes in kallikrein content: at the early stage it doesn't differ from the control points and later it decreases significantly. The results of the investigation can be the basis for the development of new approaches to correction and treatment of this pathology.

**Keywords:** kallikrein-kinin system, dynamics of the development of the experimental «shock» lung.

**Актуальность.** Предметом исследований клиницистов, морфологов, патофизиологов весьма часто является так называемый «острый респираторный дистресс-синдром» (adult respiratory distress syndrome) или

«шоковое» легкое. Эта форма нарушения дыхания, для которой характерно развитие клинической картины респираторного дистресс-синдрома, уменьшение легочной эластичности, артериовенозное шунтирование в малом круге кровообращения, рефракторная гипоксемия, легочная инфильтрация при рентгенографии грудной клетки [3]. Многие годы европейские исследователи предпочитали пользоваться термином «шоковое легкое» [9]; американские врачи чаще использовали термин «респираторный дистресс-синдром» [8]. В странах СНГ в подобных случаях, как правило, ставили диагноз пневмонии с конкретизацией зоны поражения и клинической ситуацией. В эксперименте и клинической физиологии используют практически все описанные в литературе термины [10]. С учетом изложенного в своей работе нами будут чаще использованы оба термина, допуская их известную условность.

**Цель исследования** – изучение показателей калликреин-кининовой системы на введение олеиновой кислоты в динамике эксперимента «шокового» легкого.

**Материал и методы.** Эксперименты выполнены на 240 белых беспородных крысах обоего пола массой 160–200 г., составивших 4 серии опытов, включая контрольных животных. Создание модели «шокового» легкого проводили путем введения олеиновой кислоты в ткань легких в дозе 0,27 мл на 100 г массы животного. Животных забивали путем массивного одноразового забора крови из правого желудочка сердца через 1, 24, 72 часа с момента введения токсического реагента. До введения олеиновой кислоты и забоя подопытных крыс осуществляли наркоз посредством интраперитонеального применения 0,3 мл 5 % кетамина и 0,2 мл 2 % ксилазина.

Исследование биологически активных веществ проводилось в тканях легкого, альвеолярных клетках, в крови крыс. Бензоил-аргинин-эстеразную активность (БАЭЭ) определяли спектрофотометрически по скорости гидролиза эфирной связи под действием протеиназ в молекуле

синтетического субстрата по методу Пасхиной Т.С., Яровой Г.А. [5]. Калликреин определяли хроматографическим методом по Пасхиной Т.С. с соавт. [6] на основании измерения БАЭЭ-эстеразной активности этого фермента после отделения калликреина от других протеиназ с подобной активностью. Содержание  $\alpha_2$ -макроглобулина определялось спектрофотометрическим методом по Нартиковой В.Ф., Пасхиной Т.С. [4] на основании аргинин-эстеразной активности комплекса трипсин –  $\alpha_2$ -макроглобулин, образующегося после взаимодействия избытка трипсина с сывороткой крови и последующей инактивации свободного, не связанного с  $\alpha_2$ -макроглобулином трипсина. Полученные данные обрабатывали статистическими методами с применением t-критерия Стьюдента. Степень связи между изучаемыми признаками определяли с помощью коэффициента корреляции (r) по Вилкоксоу.

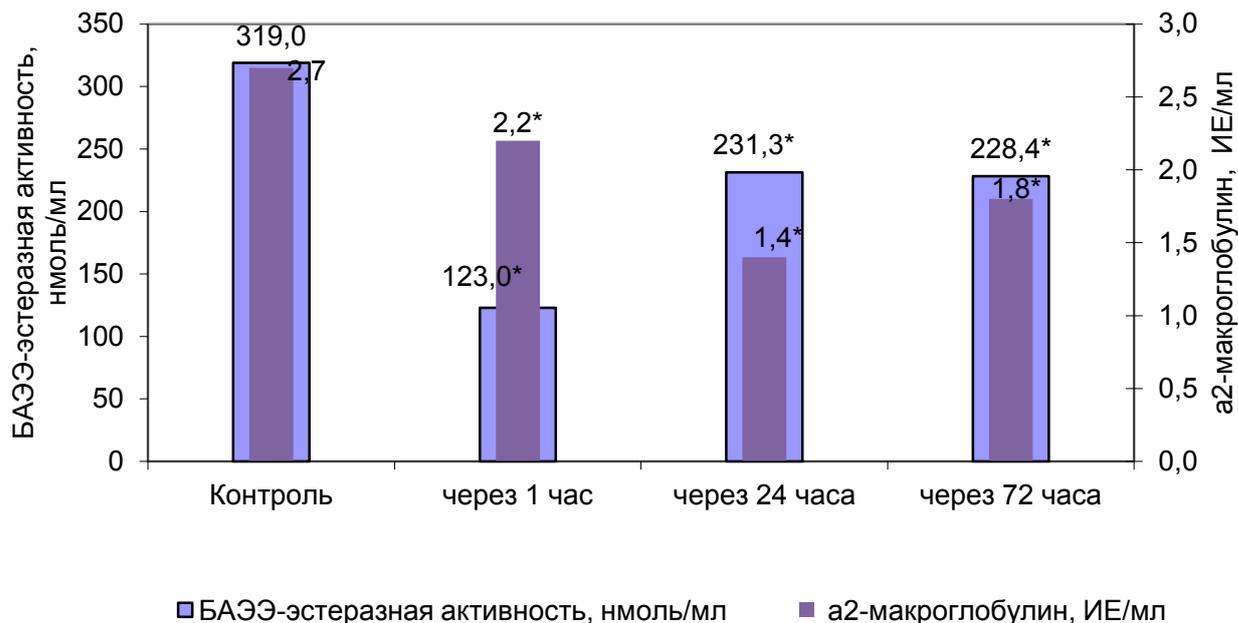
**Результаты и обсуждение.** Активация калликреин-кининовой системы имеет большое значение в патогенезе респираторного дистресс-синдрома, во-первых, в связи с тем, что она участвует в активации фактора Хагемана и каскаде свертывания крови, и, во-вторых, вазоактивные пептиды приводят к увеличению сосудистой проницаемости. Определенную роль в развитии отека легкого у больного с респираторным дистресс-синдромом отводят так называемой белковой системе фактора Хагемана (включающей фактор XII, фактор XI и кининогены высокой молекулярной массы). Важное значение в повышении проницаемости принадлежит продукту деятельности калликреин-кининовой системы брадикинину, который образуется в легких [7]. Отмечено, что брадикинин увеличивает проницаемость бронхиальных венул, а в условиях гипоксемии или повышенного содержания простагландина  $E_2$  он увеличивает проницаемость и легочных микрососудов.

Как показали результаты исследования БАЭЭ-эстеразная активность (N-бензоил-L-аргинин этиловый эфир) в контрольной серии составила  $319,0 \pm 12,2$  нмоль/мл (рис .1). Через час после воспроизведения экспериментального «шокового» легкого активность БАЭЭ-эстеразы резко

снижается до  $123,2 \pm 8,3$  нмоль/мл. Затем происходило повышение этого показателя соответственно до  $231,3 \pm 28,1$  нмоль/мл через 24 часа наблюдения и до  $228,4 \pm 23,1$  нмоль/мл через 72 часа.

Поскольку контроль за деятельностью кининогеназа (в том числе БАЭЭ- эстеразы) осуществляется за счет их ингибиторов, каким является  $\alpha_2$ -макроглобулин, то нами была изучена динамика изменения данного ингибитора. Установлено, что если в исходном состоянии содержание  $\alpha_2$ -макроглобулина в сыворотке крови составило  $2,7 \pm 0,07$  ИЕ/мл, то через 1 час после воспроизведения «шокового» легкого он достоверно снизился до  $2,2 \pm 0,08$  ИЕ/мл и до  $1,4 \pm 0,06$  ИЕ/мл – через 24 часа.

Снижение  $\alpha_2$ -макроглобулина и подавление БАЭЭ-эстеразной активности существенным образом оказывает влияние на освобождение калликреина и его предшественника прекаликреина. Динамика изменений этих показателей после моделирования экспериментального «шокового» легкого представлена на рис. 1.

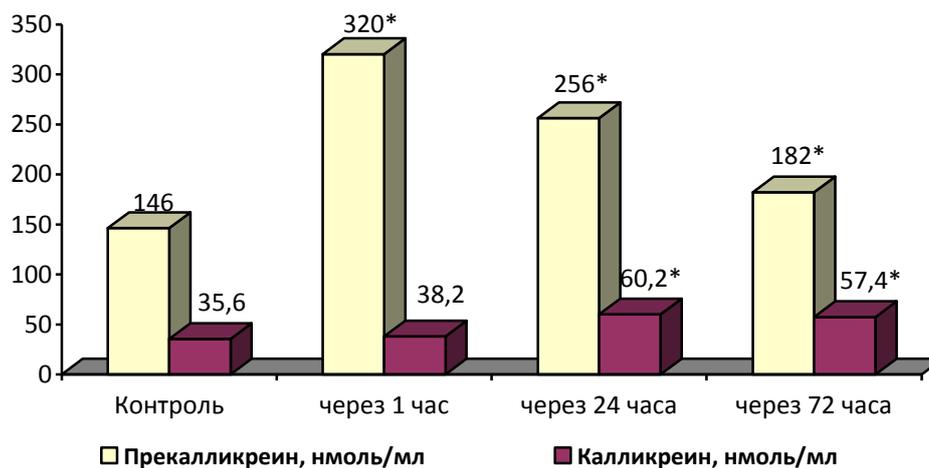


**Рис. 1.** Изменение БАЭЭ-эстеразной активности и  $\alpha_2$ -макроглобулина в динамике экспериментального «шокового» легкого

Примечание: \* –  $P < 0,05$  здесь и далее различия с контролем статистически значимы; n – количество животных 20.

Изучение прекаликреина в контрольной серии экспериментов в сыворотке крови у крыс показал, что его уровень составил  $146,4 \pm 8,9$

нмоль/мл. Через час после воспроизведения модели «шокового» легкого его содержание увеличивалось и составило  $320,4 \pm 14,5$  нмоль/мл.



**Рис. 2.** Изменение прекалликреина и калликреина в динамике экспериментального «шокового» легкого

Примечание: \* –  $P < 0,05$ ; n – количество животных 20.

В дальнейшем через 24 часа после развития «шокового» легкого содержание предшественника калликреина достоверно снижается до  $256,3 \pm 30,9$  нмоль/мл, а через 72 часа наблюдается его снижение до минимальных величин  $182,1 \pm 18,4$  нмоль/мл. В первом часу развития экспериментального «шокового» легкого содержание калликреина практически не отличалось от контрольных значений ( $35,6 \pm 2,4$  нмоль/мл против  $38,2 \pm 1,6$  нмоль/мл). Тогда как через 24 часа и 72 часа после воспроизведения «шокового» легкого содержание калликреина достоверно повышалось соответственно до  $60,2 \pm 2,8$  нмоль/мл и  $57,4 \pm 2,5$  нмоль/мл.

Одной из причин, вызывающих активацию калликреин-кининовой системы, является повреждение целостности ткани в результате влияния олеиновой кислоты, поскольку повышение активности калликреин-кининовой системы – это неспецифическая реакция организма защитного характера. Однако при развитии гипоксии такие вазоактивные продукты калликреин-кининовой системы, как брадикинин нарушают процесс микроциркуляции, способствуют возникновению воспалительных процессов и изменяют сурфактантную систему легких. Другой причиной является

повышение активности фактора XII (в условиях повреждения легочной ткани), который способствует быстрому превращению как плазменного, так и тканевого прекалликреина в калликреин. Калликреин, активируя фактор Хагемана, в конечном итоге, еще более усугубляет воспалительный процесс и развитие респираторного дистресс-синдрома. Кроме того, связанные с поверхностью ткани и клеток калликреин и фактор XII могут существенно влиять на изменение сурфактантной системы легких.

**Выводы.** Таким образом, в динамике развития «шокового» легкого регистрируется своеобразное изменение в содержании калликреина: в ранние сроки оно достоверно не отличается от контрольных значений, а в поздние периоды достоверно повышается, то есть проявляется обратнопропорциональная зависимость с активностью БАЭЭ-эстеразы.

Активация калликреин-кининовой системы является, с одной стороны, неспецифической реакцией на повреждение и носит защитный характер [1, 2]. С другой стороны, продукты этой системы (брадикинин и др.) при развивающейся тканевой гипоксии могут усугублять воспалительный процесс и нарушать процесс микроциркуляции.

#### Список литературы:

1. *Гельцер Б.И., Жилкова Н.Н.* Активность калликреин-кининовой системы у больных витамин В12–дефицитной анемией // Бюллетень СО РАМН. – 2005. – № 3 (117). – С. 131–134.
2. *Дзгоева М.Г., Дзилихова К.М., Дзгоева З.Г.* Функциональная активность калликреин-кининовой системы крови при нарушениях системной гемодинамики у детей // Педиатрия. – 2008. – Т. 87, № 2. – С. 18–21.
3. *Курдюмова Н.В., Лубнин А.Ю., Сазонов И.А.* Развитие острой дыхательной недостаточности и отек на фоне последовательного дренирования двухстороннего пневмоторакса // Вестник интенсивной терапии. – 2011. – № 3. – С. 50–54.
4. *Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С.* Унифицированный метод определения активности  $\alpha_1$ -антитрипсина и  $\alpha_2$ -макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека // Вопросы медицинской химии. – 1979. – Т. 25 (4). – С. 494–499.

5. Пасхина Т.С., Яровая Г.А. Калликреин сыворотки крови человека. Активность фермента и хроматографический метод определения // Биохимия. – 1970. – Т. 35 (5). – С. 1055–1058.
6. Пасхина Т.С., Якубовская Р.И., Баженова Г.Е. Модифицированный хроматографический метод определения калликреина и прекаликреина в плазме крови человека: Методические рекомендации. – М., 1984. – 10 с.
7. Учасова Е.Г. Активность калликреин-кининовой системы и перекисное окисление липидов мокроты при ХОБЛ // Материалы Международной 65-й научной студенческой конференции им. Н.И.Пирогова / под ред. В.В. Новицкого, Л.М. Огородовой. – Томск, 2006. – С. 285–287.
8. Lee D.L., Chiang H.T., Lin S.L. Prone-position ventilation induces sustained improvement in oxygenation in patients with acute respiratory distress syndrome who have a large shunt // Crit. Care Med.. – 2002. – Vol. 30 (7). – P. 1446–1452.
9. Norwood S.H., Civetta J.M. The adult respiratory syndrome // Gynecol. and Obstet. – 1985. – Vol. 161 (5). – P. 497–508.
10. Willar J., J.lanco B., Kacmarek R.M. Acute respiratory distress syndrome definition: do we need a change? // Curr. Opin Crit. Care. – 2011. – Vol. 17 (1). – P. 13–17.

## References

1. Gel'tser B.I., Zhilkova N.N. Aktivnost' kallikrein-kininovoy sistemy u bol'nykh vitamin V12–defitsitnoy anemiei [Activity of the kallikrein-kinin system in patients with B12-deficiency anemia]. *Byulleten' SO RAMN*, 2005, no. 3 (117), pp. 131–134 (in Russian).
2. Dzgoeva M.G., Dzilikhova K.M., Dzgoeva Z.G. Funktsional'naya aktivnost' kallikrein-kininovoy sistemy krovi pri narusheniyakh sistemnoy gemodinamiki u detey [Functional activity of the blood kallikrein-kinin system in systemic hemodynamics disturbances in children]. *Pediatriya*, 2008, vol. 87, no. 2, pp. 18–21 (in Russian).
3. Kurdyumova N.V., Lubnin A.Yu., Sazonov I.A. Razvitie ostroy dykhatel'noy nedostatochnosti i otek na fone posledovatel'nogo drenirovaniya dvukhstoronnego pnevmotoraksa [Development of acute respiratory failure and edema at the background of gradual drainage of double pneumothorax]. *Vestnik intensivnoy terapii*, 2011, no. 3, pp. 50–54 (in Russian).
4. Nartikova V.F., Pashina T.S. Unifitsirovannyi metod opredeleniya aktivnosti  $\alpha_1$ –antitripsina i  $\alpha_2$ –makroglobulina v syvorotke (plazme) krovi cheloveka [Unified method of studying of the activity of  $\alpha_1$ –antitrypsin and  $\alpha_2$ –macroglobulin in human blood serum]. *Vopr. med. khimii*, 1979, vol. 25 (4), pp. 494–499 (in Russian).
5. Pashina T.S., Yarovaya G.A. Kallikrein syvorotki krovi cheloveka. Aktivnost' fermenta i khromatograficheskiy metod opredeleniya [Kallikrein of human blood serum. Activity of the enzyme and the chromatographic method of studying]. *Biokhimiya*, 1970, vol. 35 (5), pp. 1055–1058 (in Russian).

6. Paskhina T.S., Yakubovskaya R.I., Bazhenova G.E. Modifitsirovanny khromatograficheskiy metod opredeleniya kallikreina i prekallikreina v plazme krovi cheloveka: Metodicheskie rekomendatsii [Modified chromatographic method of studying of kallikrein and prekallikrein in human blood plasma]. Moscow, 1984. 10 p. (in Russian).

7. Uchasova E.G. Aktivnost' kallikrein-kininovy sistemy i perekisnoe okislenie lipidov mokroty pri KhOBL [Activity of the kallikrein-kinin system and peroxile oxidation of lipids in chronic obstructive pulmonary disease]. *Materials of the International scientific students` conference named after N.I. Pirogov*. Edited by Novitskiy V.V., Ogorodova L.M. Tomsk, 2006, pp. 285–287 (in Russian).

8. Lee D.L., Chiang H.T., Lin S.L. Prone-position ventilation induces sustained improvement in oxygenation in patients with acute respiratory distress syndrome who have a large shunt. *Crit. Care Med*, 2002, vol. 30 (7), pp. 1446–1452.

9. Norwood S.H., Civetta J.M. The adult respiratory syndrome. *Gynecol. and Obstet*, 1985, vol. 161 (5), pp. 497–508.

10. Willar J., J.lanco B., Kacmarek R.M. Acute respiratory distress syndrome definition: do we need a change? *Curr. Opin Crit. Care*, 2011, vol. 17 (1), pp. 13–17.

**Алипбекова Айгуль Сураповна** – старший преподаватель модуля нормальной физиологии (тел.: 8 (727) 338-70-90, e-mail: alipbek\_aigul@mail.ru).

**Анамбаева Айгуль Ибадуллаевна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей гигиены и экологии (тел.: 8 (727) 338-70-90, e-mail: aigul050271@mail.ru).

Казахский Национальный Медицинский Университет им. С.Д. Асфендиярова, 050000, Казахстан, г. Алматы ул. Толе-би, 94.

**Alipbekova Aigul Surapovna** – senior teacher of the course of normal physiology (tel. 8 (727) 338-70-90, e-mail: alipbek\_aigul@mail.ru)

**Anambaeva Aigul Ibadullaevna** – Candidate of Medical Science, associate professor of the department of general hygiene and ecology (tel. 8 (727) 338-70-90, e-mail: aigul050271@mail.ru).

Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, 94, Tole-bi Str., Almaty, 050000, Kazakhstan.