



Абатуров А.Е.¹, Волосовец А.П.², Худяков А.Е.¹

¹ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины», г. Днепр, Украина

²Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Нозоспецифические особенности редокс-процессов при муковисцидозе

For cite: Zdorov'ye Rebenka. 2017;12(7):860-864. doi: 10.22141/2224-0551.12.7.2017.116193

Резюме. В обзоре литературы изложены современные данные об особенностях редокс-процессов, происходящих в просвете респираторного тракта при муковисцидозе

Ключевые слова: заболевания органов дыхания; антиоксидантная система

Введение

Данная статья является продолжением серии предыдущих публикаций, посвященных нозоспецифическим особенностям антиоксидантной системы при заболеваниях органов дыхания.

Муковисцидоз

У больных муковисцидозом наблюдается повышение уровня маркеров оксидантного стресса, которые свидетельствуют об усилении перекисного окисления липидов, окисления белков и деградации ДНК [23, 24]. В экспериментальных условиях установлено, что в бронхоальвеолярной жидкости респираторного тракта мышей с нокаутом гена трансмембранного регуляторного протеина муковисцидоза (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator — CFTR/ABCC7) отмечаются биохимические и морфологические признаки оксидантного стресса. В цитоплазматическом пространстве эпителиоцитов клеточной линии с делецией гена CFTR/ABCC7 отмечается очень высокий уровень генерации супероксида аниона радикала (O_2^-) и концентрации перекиси водорода (H_2O_2), по всей вероятности, митохондриального генеза, так как муковисцидоз ассоциирован с низкой экспрессией DUOX2 [17]. У больных муковисцидозом высокая генерация активированных кислородсодержащих метаболитов (АКМ) в респираторном тракте

обеспечивается преимущественно нейтрофилами, выраженный и стойкий приток которых в просвет дыхательных путей в ответ на действие хемоаттрактантов является характерной особенностью процесса воспаления при данном заболевании [26, 35].

Показано, что мыши с нокаутом гена *Cybb* высоко восприимчивы к определенным штаммам *Burkholderia cepacia*, которые часто поражают больных муковисцидозом [26, 29].

Отличительной особенностью воспаления слизистой оболочки бронхиального дерева при муковисцидозе от других хронических воспалительных заболеваний органов дыхания является снижение экспрессии iNOS [7, 8, 28]. Данная особенность воспалительного процесса, наблюдаемая при муковисцидозе, вероятно, обусловлена высокой продукцией асимметричного NG,NG-диметил-L-аргинина (ADMA), который является естественным ингибитором активности ферментов pNOS и eNOS [1]. По всей вероятности, при муковисцидозе ADMA играет определенную роль не только в снижении генерации NO, но и в увеличении продукции O_2^- и пероксинитрита. Снижение продукции NO сопряжено с дефицитом образования S-нитрозотиолов, которые, как известно, обладают антимикробными свойствами. S-нитрозотиолы усиливают биение реснитчатого эпителия, расслабляют гладкие мышцы респираторного тракта и предотвращают

развитие тахифилаксии к β_2 -агонистам. Терапия S-нитрозотиолами при муковисцидозе способствует оксигенации крови [9, 16].

Снижение уровня генерации NO у больных муковисцидозом коррелирует с риском инфицирования *Pseudomonas aeruginosa* и со степенью внешнесекреторной недостаточностью поджелудочной железы. Также низкий уровень генерации NO способствует формированию обструкции дыхательных путей [30]. С другой стороны, высокий уровень нитритов и нитратов в бронхоальвеолярной жидкости больных муковисцидозом является важным фактором, определяющим колонизацию денитрифицирующих микроорганизмов — *Pseudomonas*, *Aspergillus* и других (рис. 1) [22].

Одним из самых распространенных белков в бронхоальвеолярной жидкости является муцин, который не только определяет вязкость мокроты, но и выполняет антиоксидантные функции. В настоящее время у человека идентифицировано 20 муциновых генов (*MUC1*, *MUC2*, *MUC3A*, *MUC3B*, *MUC4*, *MUC5AC*, *MUC5B*, *MUC6*, *MUC7*, *MUC8*, *MUC9*, *MUC11*, *MUC12*, *MUC13*, *MUC15*, *MUC16*, *MUC17*, *MUC18*, *MUC19*, *MUC20*) [11]. Увеличение генерации АКМ сопровождается повышением экспрессии гена муцина и увеличением секреции муцина, в результате чего повышается уровень антиоксидантной защиты респираторного тракта. В физиологических условиях основную ответственность за вязкость слизи респираторного тракта несут гелеобразующие муцины — *MUC5AC*, продуцируемого бокаловидными клетками, и *MUC5B*, секретлируемого подслизистыми железами бронхиального дерева. При хронических инфекционно-воспалительных заболеваниях эту функцию в основном выполняют ДНК и F-актин. Несколько групп исследователей показали, что у больных муковисцидозом наблюдается достоверное снижение содержания *MUC5AC* и *MUC5B* [19, 31]. Концентрация муцина в мокроте у больных муковисцидозом соответствует возрастной норме, и только при инфицировании респираторного тракта бактериями *Pseudomonas aeruginosa* происходит постепенное и быстрое снижение содержания муцина [33]. Markus O. Henke и соавт. [33] предполагают, что снижение уровня содержания муцина обусловлено его деградацией за счет увеличения активности сериновых протеаз, а не подавления продукции муцина. У больных муковисцидозом именно за счет дегидратации муцина наблюдается высокая вязкость мокроты, которая определяет снижение эффективности дренажной функции респираторного тракта [2, 32]. Anitilde M. González-Guerrero и соавт. [37] продемонстрировали наличие положительной связи между недостаточностью функционирования CFTR и гиперсекрецией *MUC1* в респираторном тракте при муковисцидозе. Вполне вероятно, что индуцированное фосфорилирование транспортного хлоридного канала CFTR может привести к конформационным изменениям других белков мембраны, которые участвуют в индукции

сигнальных *MUC1*-ассоциированных путей. Также муцин защищает патогенные бактерии, в частности *Pseudomonas aeruginosa*, от нейтрофильного киллинга. Предлагают использовать фармакологическое ингибирование синтеза муцина в качестве нового направления лечения больных с муковисцидозом [2, 10, 14, 32].

Протеин CFTR является цАМФ-активируемым анионным трансмембранным каналом, который представлен на апикальной поверхности мембраны различных эпителиальных клеток. Данный канал является основным проводником ионов Cl^- , но также участвует в процессах трансмембранного перехода аниона SCN^- , глутатиона [4, 15]. Протеин мутированного гена *CFTR/ABCC7* теряет способность транспортировать из клетки в люмен анионы SCN^- , что приводит к снижению пула SCN^- на апикальной наружной поверхности цитоплазматической мембраны эпителиоцитов слизистой оболочки бронхов. Особенно низкий уровень концентрации SCN^- отмечается у детей, больных муковисцидозом (28–56 мкмоль). Согласно математической модели, нарушение функционирования DUOX и дефицит анионов SCN^- у больных муковисцидозом не может компенсироваться даже гиперпродукцией лактопероксидазы (lactoperoxidase — LPO). Нарушение LPO-ассоциированного образования тиоцианита (OSCN^-) сопровождается достоверным снижением уровня неспецифической защиты респираторного тракта у больных муковисцидозом [4, 36].

В мокроте больных муковисцидозом также наблюдается высокое содержание миелопероксидазы (myeloperoxidase — MPO), которая, как известно, используя H_2O_2 , катализирует образование мощной бактерицидной хлорноватистой кислоты (HOCl). Фермент MPO также, участвуя в окислении тирозиновых аминокислотных остатков протеинов, обуславливает образование 3-нитротирозинов, дитирозинов и 3-хлортирозинов в просвете респираторного тракта больных муковисцидозом. Установлено, что MPO приводит к снижению активности eNOS, также способствуя уменьшению объема генерации NO [20, 21].

Для больных муковисцидозом характерен низкий уровень экспрессии всех трех изоформ супероксиддисмутазы (superoxide dismutase — SOD) в эпителиальных клетках трахеи и поджелудочной железы [30].

При муковисцидозе наблюдается низкий уровень концентрации GSH в бронхоальвеолярной жидкости, сыворотке крови, нейтрофилах. Основная причина, определяющая низкое содержание восстановленной сульфгидрильной формы глутатиона (GSH), до настоящего времени остается неизвестной. Предполагается, что мальабсорбция, сопровождающая муковисцидоз, обуславливает уменьшение всасывания белков и может способствовать снижению содержания GSH. Однако вполне вероятно, что снижение уровня GSH в бронхоальвеолярной жидкости респираторного тракта

больных муковисцидозом связано с нарушением функционирования CFTR/ABCC7. В 1989 году John R. Riordan и соавт. [12] впервые определили, что нарушение функционирования CFTR/ABCC7, представляющего хлоридный канал, лежит в основе развития муковисцидоза. Протеин CFTR является представителем семейства протеинов мультитарственной резистентности (Multidrug-Resistance like Protein — MRP), которые принимают участие в трансмембранном перемещении GSH. Глутатион, ингибируя CFTR АТФазу, переключает функционирование протеина CFTR с транспорта ионов хлора на транслокацию GSH [18]. Ограничение функциональных возможностей CFTR сопровождается нарушением транспортировки GSH. С другой стороны, высокие уровни окисленного глутатиона (GSSG), наблюдаемые у больных муковисцидозом, ингибируют активность CFTR. По всей вероятности, ингибирование активности CFTR связано с его глутатионированием [6]. Снижение внеклеточного содержания GSH обусловлено не только нарушением его транспорта через CFTR, но и ускорением глутатионового цикла, о чем свидетельствует повышение активности γ -глутамилтрансферазы (gamma-glutamyltransferase — GGT) у детей с муковисцидозом. Одним из механизмов повышения концентрации GGT в мокроте является перенос данного фермента рекрутированными нейтрофилами в очаг воспаления [2, 5]. Известно, что GSH ингибирует деградацию ингибирующего комплекса I κ B α , в связи с чем низкий уровень GSH в клетках больных муковисцидозом предопределяет про-

лонгированную активацию фактора транскрипции NF- κ B и, как следствие, длительность воспалительного процесса слизистой оболочки бронхиального дерева. Трансактивность NF- κ B является одним из молекулярных компонентов, определяющих хронический характер воспалительного процесса ре-

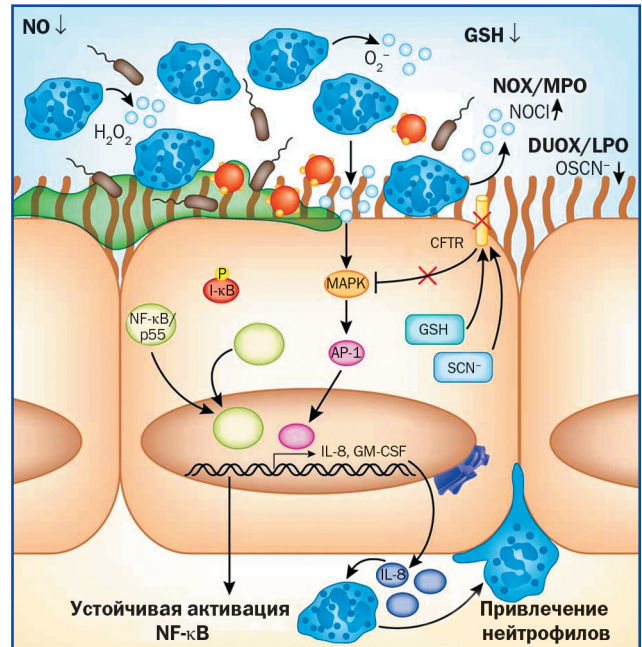


Рисунок 2. Нозоспецифические особенности редокс-процессов, происходящих в просвете респираторного тракта при муковисцидозе [3, модификация]

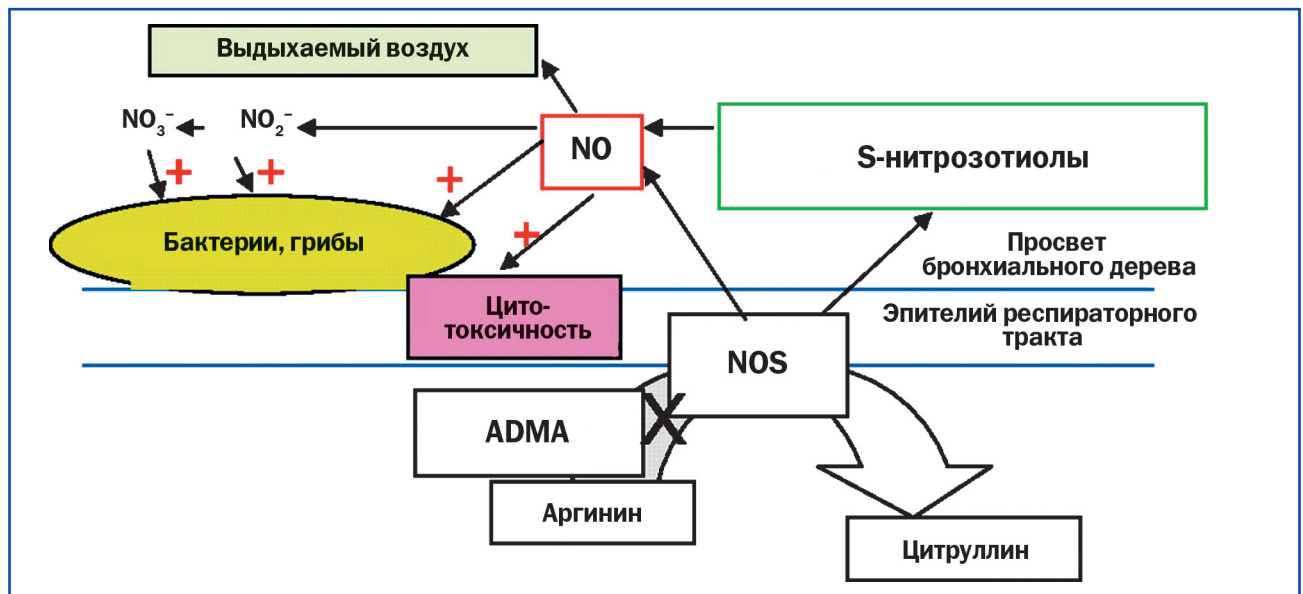


Рисунок 1. Особенности утилизации NO в респираторном тракте у больных муковисцидозом [16]
 Примечание: у больных муковисцидозом в респираторном тракте отмечается избыточная продукция ADMA, который ингибирует генерацию NO, окисляющегося до нитритов (NO₂⁻) и нитратов (NO₃⁻), и процесс образования S-нитрозотиолов. Высокий уровень содержания ADMA, препятствуя генерации NO, проявляет как саногенетическое действие — снижает выраженность цитотоксического действия NO на эпителиоциты респираторного тракта и препятствует росту денитрифицирующих микроорганизмов, так и патогенетическое влияние — ингибирует формирование S-нитрозотиолов, которые являются эндогенными бронходилататорами, активаторами мукоцилиарного клиренса и ингибиторами роста микроорганизмов.

спираторного тракта у больных с муковисцидозом. Введение внутрь или ингаляционно GSH достоверно снижает активность клинических проявлений воспалительного процесса бронхиального дерева у больных муковисцидозом [30]. Развитие инфекционно-воспалительного поражения респираторного тракта при муковисцидозе не сопровождается повышением уровня содержания GSH в бронхоальвеолярной жидкости [25, 27, 34].

Нозоспецифические особенности редокс-процессов, происходящих в просвете респираторного тракта при муковисцидозе, в целом представлены на рис. 2.

Изменения редокс-процессов способствуют развитию воспаления и существенно снижают потенциал неспецифической защиты слизистой оболочки бронхиального дерева у больных муковисцидозом [3, 13].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии какого-либо конфликта интересов при подготовке данной статьи.

References

1. Grasemann H, Al-Saleh S, Scott JA, et al. Asymmetric dimethylarginine contributes to airway nitric oxide deficiency in patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011 May 15;183(10):1363-8. doi: 10.1164/rccm.201012-1995OC.
2. Cantin AM, White TB, Cross CE, Forman HJ, Sokol RJ, Borowitz D. Antioxidants in cystic fibrosis. Conclusions from the CF antioxidant workshop, Bethesda, Maryland, November 11-12, 2003. *Free Radic Biol Med.* 2007 Jan 1;42(1):15-31. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.09.022.
3. Cohen TS, Prince A. Cystic fibrosis: a mucosal immunodeficiency syndrome. *Nat Med.* 2012 Apr 5;18(4):509-19. doi: 10.1038/nm.2715.
4. Lorentzen D, Durairaj L, Pezzulo AA, et al. Concentration of the antibacterial precursor thiocyanate in cystic fibrosis airway secretions. *Free Radic Biol Med.* 2011 May 1;50(9):1144-50. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.02.013.
5. Corti A, Franzini M, Cianchetti S, et al. Contribution by polymorphonuclear granulocytes to elevated gamma-glutamyltransferase in cystic fibrosis sputum. *PLoS One.* 2012;7(4):e34772. doi: 10.1371/journal.pone.0034772.
6. Cooper AJ, Pinto JT, Callery PS. Reversible and irreversible protein glutathionylation: biological and clinical aspects. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2011 Jul;7(7):891-910. doi: 10.1517/17425255.2011.577738.
7. Darling KE, Evans TJ. Effects of nitric oxide on *Pseudomonas aeruginosa* infection of epithelial cells from a human respiratory cell line derived from a patient with cystic fibrosis. *Infect Immun.* 2003 May;71(5):2341-9. PMID: 12704103.
8. Gotoh T, Mori M. Nitric oxide and endoplasmic reticulum stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006 Jul;26(7):1439-46. doi: 10.1161/01.ATV.0000223900.67024.15.
9. Grasemann H, Ratjen F. Nitric oxide and L-arginine deficiency in cystic fibrosis. *Curr Pharm Des.* 2012;18(5):726-36. PMID: 22229575.
10. Haley CL, Colmer-Hamood JA, Hamood AN. Characterization of biofilm-like structures formed by *Pseudomonas aeruginosa* in a synthetic mucus medium. *BMC Microbiol.* 2012 Aug 18;12:181. doi: 10.1186/1471-2180-12-181.
11. Hauber HP, Foley SC, Hamid Q. Mucin overproduction in chronic inflammatory lung disease. *Can Respir J.* 2006 Sep;13(6):327-35. PMID: 16983448.
12. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science.* 1989 Sep 8;245(4922):1066-73. PMID: 2475911.
13. Hartl D, Gaggari A, Bruscia E, et al. Innate immunity in cystic fibrosis lung disease. *J Cyst Fibros.* 2012 Sep;11(5):363-82. doi: 10.1016/j.jcf.2012.07.003.
14. Lambiase A, Catania MR, Rossano F. Anaerobic bacteria infection in cystic fibrosis airway disease. *New Microbiol.* 2010 Jul;33(3):185-94. PMID: 20954436.
15. Livraghi A, Randell SH. Cystic fibrosis and other respiratory diseases of impaired mucus clearance. *Toxicol Pathol.* 2007 Jan;35(1):116-29. doi: 10.1080/01926230601060025.
16. Marozkina NV, Gaston B. Nitrogen balance in the ecosystem of the cystic fibrosis lung. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011 May 15;183(10):1290-2. doi: 10.1164/rccm.201102-0288ED.
17. Velsor LW, Kariya C, Kachadourian R, Day BJ. Mitochondrial oxidative stress in the lungs of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein mutant mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2006 Nov;35(5):579-86. doi: 10.1165/rcmb.2005-0473OC.
18. Ballatori N, Hammond CL, Cunningham JB, Krance SM, Marchan R. Molecular mechanisms of reduced glutathione transport: role of the MRP/CFTR/ABCC and OATP/SLC21A families of membrane proteins. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005 May 1;204(3):238-55. doi: 10.1016/j.taap.2004.09.008.
19. Henke MO, John G, Germann M, Lindemann H, Rubin BK. MUC5AC and MUC5B mucins increase in cystic fibrosis airway secretions during pulmonary exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007 Apr 15;175(8):816-21. doi: 10.1164/rccm.200607-1011OC.
20. Van Der Vliet A, Nguyen MN, Shigenaga MK, Eiserich JP, Marelich GP, Cross CE. Myeloperoxidase and protein oxidation in cystic fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000 Sep;279(3):L537-46. PMID: 10956629.
21. Chapman AL, Morrissey BM, Vasu VT, et al. Myeloperoxidase-dependent oxidative metabolism of nitric oxide in the cystic fibrosis airway. *J Cyst Fibros.* 2010 Mar;9(2):84-92. doi: 10.1016/j.jcf.2009.10.001.
22. Gaston B, Ratjen F, Vaughan JW, et al. Nitrogen redox balance in the cystic fibrosis airway: effects of antipseudomonal therapy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Feb 1;165(3):387-90. doi: 10.1164/ajrccm.165.3.2106006.
23. Galli F, Battistoni A, Gambari R, et al; Working Group on Inflammation in Cystic Fibrosis. Oxidative stress and antioxidant therapy in cystic fibrosis. *Biochim Biophys Acta.* 2012 May;1822(5):690-713. doi: 10.1016/j.bbadis.2011.12.012.
24. Lezo A, Biasi F, Massarenti P, Calabrese R, Poli G, Santini B, Bignamini E. Oxidative stress in stable cystic fibrosis patients: do we need higher antioxidant plasma levels? *J Cyst Fibros.* 2013 Jan;12(1):35-41. doi: 10.1016/j.jcf.2012.06.002.
25. Ballatori N, Krance SM, Marchan R, Hammond CL. Plasma membrane glutathione transporters and their roles in cell physiology and pathophysiology. *Mol Aspects Med.* 2009 Feb-Apr;30(1-2):13-28. doi: 10.1016/j.mam.2008.08.004.
26. Pongnimitprasert N, El-Benna J, Foglietti MJ, Gougerot-Pocidal MA, Bernard M, Braut-Boucher F. Potential role of the "NADPH oxidases" (NOX/DUOX) family in cystic fibrosis. *Ann Biol Clin (Paris).* 2008 Nov-Dec;66(6):621-9. doi: 10.1684/abc.2008.0285.
27. Cacciatore I, Cornacchia C, Pinnen F, Mollica A, Di Stefano A. Prodrug approach for increasing cellular glutathione levels. *Molecules.* 2010 Mar 3;15(3):1242-64. doi: 10.3390/molecules15031242.
28. Dötsch J, Puls J, Klimek T, Rascher W. Reduction of neuronal and inducible nitric oxide synthase gene expression in patients with cystic fibrosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2002 Apr;259(4):222-6. PMID: 12064512.
29. Rada B, Hably C, Meczner A, et al. Role of Nox2 in elimination of microorganisms. *Semin Immunopathol.* 2008 Jul;30(3):237-53. doi: 10.1007/s00281-008-0126-3.
30. Rottner M, Freyssinet JM, Martínez MC. Mechanisms of the noxious inflammatory cycle in cystic fibrosis. *Respir Res.* 2009 Mar 13;10:23. doi: 10.1186/1465-9921-10-23.

31. Rubin BK. Mucus structure and properties in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev.* 2007 Mar;8(1):4-7. doi: 10.1016/j.prrv.2007.02.004.
32. Rubin BK. Mucus, phlegm, and sputum in cystic fibrosis. *Respir Care.* 2009 Jun;54(6):726-32; discussion 732. PMID: 19467160.
33. Henke MO, John G, Rheineck C, Chillappagari S, Naehrlich L, Rubin BK. Serine proteases degrade airway mucins in cystic fibrosis. *Infect Immun.* 2011 Aug;79(8):3438-44. doi: 10.1128/IAI.01252-10.
34. Roum JH, Buhl R, McElvaney NG, Borok Z, Crystal RG. Systemic deficiency of glutathione in cystic fibrosis. *J Appl Physiol* (1985). 1993 Dec;75(6):2419-24. PMID: 8125859.
35. Hayes E, Pohl K, McElvaney NG, Reeves EP. The cystic fibrosis neutrophil: a specialized yet potentially defective cell. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2011 Apr;59(2):97-112. doi: 10.1007/s00005-011-0113-6.
36. Conner GE, Wijkstrom-Frei C, Randell SH, Fernandez VE, Salathe M. The lactoperoxidase system links anion transport to host defense in cystic fibrosis. *FEBS Lett.* 2007 Jan 23;581(2):271-8. doi: 10.1016/j.febslet.2006.12.025.
37. González-Guerrico AM, Cafferata EG, Radrizzani M, et al. Tyrosine kinase c-Src constitutes a bridge between cystic fibrosis transmembrane regulator channel failure and MUC1 overexpression in cystic fibrosis. *J Biol Chem.* 2002 May 10;277(19):17239-47. doi: 10.1074/jbc.M112456200.

Получено 08.11.2017 ■

Абатуров О.Є.¹, Волосовець О.П.², Худяков О.Є.¹¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро, Україна²Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ, Україна**Нозоспецифічні особливості редокс-процесів при муковісцидозі**

Резюме. В огляді літератури викладено сучасні дані щодо особливостей редокс-процесів, що відбуваються в просвіті респіраторного тракту при муковісцидозі.

Ключові слова: захворювання органів дихання; антиоксидантна система

A.E. Abaturov¹, A.P. Volosovets², A.E. Khudyakov¹¹State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine²Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine**Nosospecific features of redox processes in cystic fibrosis**

Abstract. The review of the literature presents current data on the characteristics of redox processes occurring in the respiratory tract in cystic fibrosis.

Keywords: diseases of the respiratory system; antioxidant system