

**Б.И. Гельцер, Н.Н. Жилкова**

## **АКТИВНОСТЬ КАЛЛИКРЕИН-КИНИНОВОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ВИТАМИН В<sub>12</sub>-ДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ**

ГОУ ВПО Владивостокский государственный медицинский университет

Цель исследования — изучить состояние калликреин-кининовой системы (ККС) и ингибиторов протеиназ у больных витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемией до и после лечения. Обследовано 74 больных. Состояние ККС оценивали по уровню калликреина (К), прекалликреина (ПК),  $\alpha_1$ -ингибитора протеиназ ( $\alpha_1$ -ИП) и  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ -МГ) в плазме крови, исследованных хроматографическим методом Т.С. Пасхиной с соавт. и унифицированным энзиматическим методом В.Ф. Нартиковой и Т.С. Пасхиной. У больных витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемией выявлено повышение активности ККС. При незначительном сроке болезни отмечена регламентируемая активация ККС, ее стабильное состояние. Длительное течение анемии привело к развитию патологического типа активации, который сохранился у больных после лечения. Выявлено, что степень выраженности активации ККС и ее восстановление после проведенного лечения зависит от длительности заболевания.

**Ключевые слова:** калликреин, прекалликреин, ингибитор протеиназ, витамин В<sub>12</sub>-дефицитная анемия

### **Введение**

Анемический синдром — наиболее распространенная патология, встречающаяся в практике врача любой специальности. У лиц пожилого и старческого возраста увеличивается частота встречаемости анемий, причем преобладающей в этот период жизни является витамин В<sub>12</sub>-дефицитная анемия. Если в молодом возрасте ее частота составляет около 0,1%, то у лиц старше 75 лет доходит уже до 4% [3]. По данным Приморского краевого гематологического отделения (г. Владивосток), 57,3% анемий у стационарных пациентов старше 60 лет приходится на данную патологию.

Состояние хронической гипоксии, возникающее у больных с синдромом анемии, является стрессовым для организма, оно характеризуется нарушениями многих метаболических процессов, приводящими к изменениям гомеостаза и, в свою очередь, отягощающими течение данных заболеваний. При этом страдают многие органы и системы [2]. В настоящее время основным адаптогеном, повышающим устойчивость организма к данным воздействиям, считают калликреин [10].

Калликреин-кининовая система крови (ККС) является центральным звеном в комплексе гуморальных систем, регулирующих гомеостаз и осуществляющих адаптивно-защитные реакции организма, активно участвующих в снабжении органов и тканей кислородом при гипоксических состояниях. Ее активация является неспецифи-

ческой реакцией организма и носит, в основном, защитный характер [1, 4, 5, 9]. Существует несколько основных причин, которые могут повлечь активацию калликреин-кининовой системы, и в первую очередь — это повреждение целостности ткани: травмы, облучение, влияние токсических метаболитов и биологических ядов. Тканевая ишемия также является несомненным фактором активации ККС [11]. В этой связи несомненный интерес представляет оценка состояния ККС и ингибиторов протеиназ у больных витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемией до и после лечения.

### **Материалы и методы**

Под нашим наблюдением находилось 74 больных витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемией: 30 мужчин (40,5%) и 44 женщины (59,5%). Пациентов с анемией средней степени тяжести было 34 (средний возраст  $65,75 \pm 3,39$  лет), с тяжелой анемией — 40 (средний возраст  $62,62 \pm 2,44$  года). Средняя длительность заболевания от момента выявления снижения гемоглобина до настоящего исследования составила  $4,96 \pm 0,25$  года. У 34 пациентов анамнез заболевания был менее 2 лет (у 16 — с анемией средней степени тяжести и 18 — с тяжелой анемией), у 40 — превышал 2 года (соответственно у 18 и 22).

Исследования на испытуемых выполнены инвазивными методами с информированного согласия испытуемых и соответствуют этическим нормам Хельсинкской декларации (2000 г.).

Диагноз заболевания верифицировали на основании характерной клинической картины

(сочетание признаков анемического синдрома, неврологических нарушений) и лабораторных данных (высокий цветовой показатель; макроцитоз, мегалоцитоз; эритроциты с остатками ядер — тельца Жолли, кольца Кэбота; ретикулоцитопения; гиперсегментация нейтрофилов; лейкопения (нейтропения); тромбоцитопения; повышение содержания железа в сыворотке; мегалобластическое кроветворение в костном мозге).

При поступлении в стационар уровень гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов у больных витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемией средней тяжести составлял 72,54±2,97 г/л, 1,87±0,12 г/л, 4,14±0,33 г/л и 155,67±12,11 г/л, — с тяжелой анемией соответственно, 46,44±1,46 г/л, 1,30±0,06 г/л, 3,99±0,34 г/л и 135,67±10,44 г/л. У 24 (32,5%) пациентов гематологическая картина заболевания протекала без классической трехростковой цитопении: в 14 (19%) случаях имелась двухростковая и в 10 (13,5%) — одноростковая цитопения.

Основным клиническим проявлением витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемии являлось сочетание анемического синдрома с признаками поражения пищеварительной и нервной систем. Больных беспокоили утомляемость, слабость, сердцебиение, одышка при физической нагрузке. Пациенты в течение ряда лет жаловались на диспепсические расстройства (86,5%), нарушения вкуса, боли и жжение в языке, особенно при приеме горячей пищи (21,6%). При этом на языке обнаруживались участки воспаления («малиновый язык») либо выявлялась атрофия сосочков.

Состояние ККС оценивали по уровню калликреина (К), прекалликреина (ПК), α<sub>1</sub>-ингибитора протеиназ (α<sub>1</sub>-ИП), α<sub>2</sub>-макроглобулина (α<sub>2</sub>-МГ) в плазме крови, исследованных хроматографическим методом Т.С. Пасхиной с соавт. [7] и унифицированным энзиматическим методом В.Ф. Нартиковой и Т.С. Пасхиной [6].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием прикладного пакета анализа табличного редактора Microsoft Excel 2002 и Statistica 5,5 для персонального компьютера. Проверку нормальности выборок проводили с помощью оценок коэффициентов асимметрии и эксцесса. Рассчитывали среднюю выборки и ошибку средней (M±m). Достоверность различий для зависимых и независимых выборок между двумя средними оценивали по критерию Стьюдента (t). Различия сравниваемых показателей принимали за статистически значимые результаты при p<0,05 (95%). Степень связи между изучаемыми признаками определяли с помощью коэффициента корреляции (r) по формуле Пирсона для количественных данных. Силу связей оценивали по величине коэффициента корреляции: сильная — при r=0,7 и более, средняя — при r=0,3-0,7, слабая — при r=0,3 и менее. Направленность связей оценивали по знаку коэффициентов корреляции.

#### Результаты и обсуждение

У всех больных витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемией при поступлении в стационар имеются признаки усиления кининогенеза. Однако выявлены значительные различия в типе реагирования ККС у больных при длительности заболевания до 2 и более 2 лет. Так, при существовании анемии менее 2 лет у пациентов как с анемией средней тяжести, так и тяжелой анемией (Таблица 1) отмечено умеренное повышение по сравнению с контролем уровня калликреина (в 1,28/1,26 раза, p<0,05), снижение прекалликреина (в 1,20/1,24 раза, p<0,05–0,01), рост активности ингибитора α<sub>1</sub>-ИП (в 1,38/1,31 раза, p<0,05) и повышение α<sub>2</sub>-МГ (в 1,31/1,24 раза, p<0,05). Подобные изменения активности калликреин-кининовой системы свидетельствуют об адаптационно-приспособительном характере физиологических изменений у этой группы больных, регламентиру-

Таблица 1  
**Показатели калликреин-кининовой системы у больных витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемией средней степени тяжести с различной длительностью заболевания**

Контроль n=52	Больные витамин В <sub>12</sub> -дефицитной анемией средней степени тяжести с длительностью заболевания до постановки диагноза	
	Менее 2 лет n=16/14	Более 2 лет n=18/17
Калликреин 79,261±2,542 нмоль/мин/мл	101,793±8,754* 97,136±7,224*	113,396±9,015* 105,468±8,662*
Прекалликреин 373,698±12,459 нмоль/мин/мл	309,818±20,273* 312,500±21,493*	471,754±23,828** 438,450±25,475*
α <sub>1</sub> -ингибитор протеаз 28,400±1,063 ИЕ/мл	39,307±3,747* 43,736±3,182**	37,195±3,886* 38,572±3,433**
α <sub>2</sub> -макроглобулин 3,241±0,132 ИЕ/мл	4,260±0,347* 4,857±0,383***	4,160±0,308** 4,472±0,278***

Примечание: n — число больных, в числителе показатели до лечения, в знаменателе — после лечения; p — уровень значимости различий больных и контрольной группы: p<0,05 — \*, p<0,01 — \*\*, p<0,001 — \*\*\*

емой активации системы с адекватным ответом системы ингибирования, включением системы «протеиназы — ингибиторы протеиназ». Это подтверждается имеющейся сильной отрицательной корреляционной зависимостью между величинами К и ПК ( $r = -0,79$  у больных со среднетяжелой анемией,  $r = -0,77$  у больных с тяжелой анемией). Большое значение в поддержании стабильного устойчивого состояния ККС имело повышение активности  $\alpha_1$ -ИП и  $\alpha_2$ -МГ, что подтверждается имеющимися корреляционными связями между  $\alpha_1$ -ИП и К ( $r = 0,56$  при анемии средней степени тяжести,  $r = 0,68$  при тяжелом течении болезни),  $\alpha_2$ -МГ и К (соответственно  $r = 0,46$  и  $r = 0,57$ ).

При более длительном течении болезни (Таблица 2) возникало несколько иное состояние ККС с нарушением соотношения К-ПК. При высокой активности калликреина плазмы крови (выше нормы в 1,43/1,37 раза,  $p < 0,05-0,01$ ) уровень прекалликреина также превышал контрольные величины (в 1,261,15 раза,  $p < 0,05-0,01$ ). Активность ингибиторов протеиназ у данных больных сохранялась высокой:  $\alpha_1$ -ИП превышал контрольные цифры в 1,30/1,25 раза ( $p < 0,05$ ),  $\alpha_2$ -МГ — в 1,28/1,22 раза ( $p < 0,05-0,01$ ). Длительное существование анемии способствовало переходу ККС из стабильного состояния с регламентируемой ее активацией к патологическому состоянию, когда имеется повышение в плазме крови активного калликреина и его предшественника — прекалликреина. При этом ККС не реагирует на систему ингибирования протеиназ, активность которой у больных с длительным течением витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемии повышена. В это время корреляционные связи между К и ПК становятся средней силы положительными ( $r = 0,59$  при анемии средней степени тяжести,  $r = 0,63$  при тяжелом течении болезни). Связи, характеризующие влияние повышенной активности ингибиторного звена на уровень калликреина плазмы крови, ис-

чезли. Эти данные свидетельствуют о разобщении биохимических процессов внутри калликреин-кининовой системы, торможении ее ответа на контролирующее звено.

После проведенного лечения у больных как со среднетяжелым, так и с тяжелым течением витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемии с длительностью заболевания менее 2 лет нормализации показателей калликреин-кининовой системы не произошло. Сохранялся регламентируемый тип ее активации с реагированием калликреина на повышенную активность ингибиторов (К —  $\alpha_1$ -ИП  $r = 0,52$  при анемии средней степени тяжести,  $r = 0,59$  при тяжелом течении болезни, К —  $\alpha_2$ -МГ, соответственно,  $r = 0,43$  и  $r = 0,47$ ). Корреляционные связи между величинами К и ПК сохранили отрицательное значение (К—ПК у больных с анемией средней степени тяжести  $r = -0,70$ , с тяжелой анемией  $r = -0,73$ ).

У пациентов с анамнезом заболевания более 2 лет также не отмечено после проведенного лечения нормализации каких-либо компонентов калликреин-кининовой системы. Остается согласованное повышение как К, так и ПК (К-ПК  $r = 0,64$  при анемии средней степени тяжести,  $r = 0,60$  при тяжелом течении болезни), без адекватного ответа их на повышенную активность ингибиторов протеиназ.

Обращает на себя внимание повышение активности ингибиторов протеиназ у всех больных после проводимого лечения. Объяснить это активацией протеолиза не представляется возможным, так как уровень калликреина у них после лечения несколько снизился. Кроме этого, ингибиторы протеиназ не оказывают заметного влияния на ККС у длительно болеющих пациентов. Основным местом синтеза компонентов ККС является печень, функциональное состояние которой значительно изменяется при витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемии [8]. Поэтому можно

Таблица 2

**Показатели калликреин-кининовой системы у больных тяжелой витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемией с различной длительностью заболевания**

Контроль n=52	Больные тяжелой витамин В <sub>12</sub> -дефицитной анемией с длительностью заболевания до постановки диагноза	
	Менее 2 лет n=18/17	Более 2 лет n=22/21
Калликреин 79,261±2,542 нмоль/мин/мл	99,623±9,041* 94,514±6,482*	108,430±9,279** 100,823±8,997**
Прекалликреин 373,698±12,459 нмоль/мин/мл	301,314±21,202** 310,320±24,089*	430,831±20,276* 436,815±21,921*
$\alpha_1$ -ингибитор протеаз 28,400±1,063 ИЕ/мл	37,196±3,113* 40,787±3,473*	35,588±3,186* 36,221±3,044*
$\alpha_2$ -макроглобулин 3,241±0,132 ИЕ/мл	4,029±0,309* 4,327±0,307**	3,970±0,312* 4,193±0,387**

Примечание: n — число больных, в числителе показатели до лечения, в знаменателе — после лечения p — уровень значимости различий больных и контрольной группы: p<0,05 — \*, p<0,01 — \*\*, p<0,001 — \*\*\*

предположить, что увеличение активности  $\alpha_1$ -ИП и  $\alpha_2$ -МГ обусловлено их повышенной выработкой в гепатоцитах в результате восстановления белковосинтетической функции печени, имеющего место на фоне проводимого лечения. Вместе с тем, после лечения на фоне нормализации уровня гемоглобина и эритроцитов активность ККС остается повышенной, что может говорить о сохраняющемся состоянии гипоксии, которое требует продолжения терапии.

#### Выводы

1. У больных витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемией имеется активация калликреин-кининовой системы с включение ингибиторного звена.
2. Тип реагирования калликреин-кининовой системы зависит от длительности заболевания.
3. При незначительном сроке витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемии формируется регламентируемая активация ККС, характеризующаяся сохранением связей внутри системы. Длительное течение заболевания способствует появлению патологического типа реагирования, свидетельствующего о торможении системы, нарушении в системе «протеиназы – ингибиторы протеиназ».
4. После проводимого лечения нормализации состояния ККС у больных витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемией не отмечается.

#### Activity of kallikrein-kinin system in patients with vitamin B<sub>12</sub>-deficiency anemia

B.I. Geltzer, N.N. Zhilkova

The aim of the investigation is to study the state of kallikrein-kinin system (KKS) and proteinase inhibitors in patients with vitamin the B<sub>12</sub>-deficiency anemia prior to and after the treatment. 74 patients with vitamin the B<sub>12</sub>-deficiency anemia have been examined. KKS state has been estimated by kallikrein, hrekallikrein, proteinase  $\alpha_1$ -inhibitor and  $\alpha_2$ -macroglobulin levels in blood plasma having been investigated by Paskhina's et al. chromatographic method and by Nartikova's and Paskhina's unified enzymatic method. Patients with vitamin the B<sub>12</sub>-deficiency anemia had the rise of KKS activity. At short disease duration a regulated KKS activation and its stable state have been marked. The continuous treatment of anemia has led to the development of pathologi-

cal type activation that had persisted at patients after treatment. It has been revealed that the degree of KKS activation intensity and its renewal after the implemented depended on the duration and severity of the disease.

#### Литература

1. Арынов Н.М. Калликреин-кининовая система при аппендикулярном перитоните у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.М. Арынов. — М., 1989. — 28 с.
2. Василенко В.Х. Миокардиодистрофия / В.Х. Василенко, С.Б. Фельдман, Н.К. Хитров. — М., 1989. — 272 с.
3. Воробьев П.А. Анемический синдром / П.А. Воробьев. — М., 2001. — 166 с.
4. Гаврилова Т.Ю. Современные методы визуализации, калликреин-кининовая система, онкомаркеры в диагностике и мониторинге распространенных форм эндометриоза: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т.Ю. Гаврилова. — М., 2002. — 22 с.
5. Гомазков О.А. Функциональное значение калликреин-кининовой системы крови в норме и при сердечно-сосудистой патологии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / О.А. Гомазков. — М., 1977. — 42 с.
6. Нартикова В.Ф. Унифицированный метод определения  $\alpha_1$ -антитрипсина и  $\alpha_2$ -макроглобулина в сыворотке крови / В.Ф. Нартикова, Т.С. Пасхина // Вопросы медицинской химии. — 1979. — № 4. — С. 494-499.
7. Пасхина Т.С. Модифицированный хроматографический метод определения калликреина и прекалликреина в плазме крови человека: Методические рекомендации / Т.С. Пасхина, Р.И. Якубовская, Г.Е. Баженова. — М., 1984. — 10 с.
8. Пчелко С.П. Функциональное состояние печени при анемиях и гемобластозах: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / С.П. Пчелко. — Петрозаводск, 1973. — 24 с.
9. Сеитов Т.З. Калликреин-кининовая система при травматическом шоке и острой кровопотере у детей (клинико-эксперим. исслед.): Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т.З. Сеитов. — М., 1989. — 23 с.
10. Суrowsикина М.С. Кининовая система крови при болезни Иценко-Кушинга и гормонально-активных опухолях надпочечников: пособие для врачей / М.С. Суrowsикина. — М., 2000. — 24 с.
11. Удут В.В. Оценка резервных возможностей калликреин-кининовой системы крови здоровых людей / В.В. Удут, Г.Т. Каиров, А.Б. Карпов // Клиническая лабораторная диагностика. — 1998. — № 5. — С. 9-10.