

П. Ф. Дудка, Ю. В. Кузнєцова-Арабулі
ОКИСЛЮВАЛЬНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ, ЙОНТРАНСПОРТНІ
АДЕНОЗИНТРИФОСФАТАЗИ ПРИ ПОРУШЕННІ СЕРЦЕВОГО РИТМУ У ХВОРИХ НА
ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

**ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ,
ИОНТРАНСПОРТНЫЕ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТАЗЫ ПРИ
НАРУШЕНИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ
ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ**

П. Ф. Дудка, Ю. В. Кузнєцова-Арабулі

Резюме

Среди наиболее частых причин внезапной смерти у больных хроническим обструктивным заболеванием легких (ХОЗЛ) выступают угрожающие для жизни нарушения сердечного ритма. Интенсификация процесса окисления тиоловых групп белковых молекул проявляется нарушением барьерной функции клеточных мембран, снижением активности Na/K-аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы), ослаблением трансмембранного потенциала и дестабилизацией биоэлектрических процессов на уровне структурных единиц сердца.

Цель работы: оценить состояние окислительной модификации белков (ОМБ) плазмы крови та ионотранспортных АТФ-аз эритроцитов при аритмиях сердца у больных ХОЗЛ (GOLD 2) в фазе обострения.

Материал и методы. В исследование включены 20 пациентов в возрасте от 44 до 62 лет с диагнозом ХОЗЛ (GOLD 2) и 20 здоровых лиц. Определяли содержание продуктов ОМБ плазмы крови, АТФ-аз в мембранах эритроцитов, проводилось суточное ЕКГ-мониторирование.

Результаты. У больных с обострением ХОЗЛ наблюдается интенсификация процесса окисления тиоловых групп белковых молекул плазмы крови, что проявляется снижением уровня ионотранспортных АТФ-аз клеточных мембран. Снижение активности мембраносвязанной Na/K-АТФ-азы ассоциируется с высоким риском возникновения опасных для жизни нарушений сердечного ритма и угрозы внезапной смерти.

Вывод. Усиление процесса окисления белковых молекул плазмы крови способствует снижению активности Na/K-АТФ-азы и инициирует возникновение жизнеопасных нарушений сердечного ритма.

Ключевые слова: хроническое обструктивное заболевание легких, окислительная модификация белков, ионотранспортные АТФ-азы.

Укр. пульмонол. журнал. 2017, № 1, С. 44–46.

Дудка Петро Федорович

Національний медичний університет

імені А. А. Богомольця, г. Київ

Кафедра внутрішніх захворювань стоматологічного факультета

Д. мед. наук, професор

13, бульвар Т. Шевченка 13, 01601, г. Київ, Україна

Тел.: 38 044 540-96-91

**OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS,
ION-TRANSPORT ADENOSINE TRIPHOSPHATASE
AND HEART RHYTHM DISORDERS IN PATIENTS
WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE**

P. F. Dudka, J. V. Kuznetsova-Arabuli

Abstract

The life-threatening cardiac arrhythmias are the most common causes of sudden death in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The intensification of the oxidation of the thiol groups of the proteins manifests in disorders of the barrier function of cell membranes, decreasing activity of Na/K-adenosine triphosphatase (ATPase), transmembrane potential and destabilization of bioelectric processes at the level of heart structural units.

Objective: To assess the state of oxidative modification of proteins (OMP) of blood plasma and ion-transport ATPase of erythrocytes in cardiac arrhythmias in stage II COPD patients with exacerbation.

Material and methods. 20 patients from 44 to 62 years old diagnosed with COPD stage II and 20 healthy individuals were included in the study. The content of blood plasma products of OMP and ATPase were examined in erythrocyte's membranes. Holter monitoring was carried out.

Results. In patients with COPD exacerbation the intensification of the oxidation of the thiol groups of the protein molecules in blood plasma was observed, which manifested by destabilization at the level of the cell membrane and decreased activity of transport ATPases. This was associated with higher risk of life-threatening cardiac arrhythmias and sudden cardiac death.

Conclusions. Intensification of the protein oxidation in blood plasma reduced the activity of Na/K-ATPase and promoted the occurrence of life-threatening cardiac arrhythmias.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, oxidative modification of proteins, ion-transport ATPase.

Ukr. Pulmonol. J. 2017; 1:44–46.

Petro F. Dudka

O. O. Bogomolets National Medical University

Internal Medicine Department of the Faculty of Dentistry

Professor, Doctor of Medical Sciences

13, T. Shevchenko Boulevard, 01601, Kyiv, Ukraine

Tel.: 38044540-96-91

Згідно даних Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) відносять до групи захворювань з високим ризиком раптової смерті. За прогнозом її експертів в 2030 році ХОЗЛ увійде в трійку захворювань з найбільш високим ризиком смертності [7]. Проведені епідеміологічні дослідження встановили, що серед основних чинників високого ризику смертності при ХОЗЛ є часте його загострення та прогресування легеневої недостатності [8]. Так, у разі зменшення об'єму форсованого видиху за 1 с (FEV₁) лише на 10 % загальна смертність збільшується на 14 %, кардіоваскулярна — на 28 %, а нефатальні кардіальні події на понад 20 % [8].

Згідно результатів ретроспективного дослідження, серед найбільш частих причин раптової смерті у хворих на ХОЗЛ є життєвонебезпечні порушення серцевого ритму [9, 10].

Встановлено, що в процесі аритмогенезу важливе значення відіграють гіпоксемія, респіраторний ацидоз, діастолічна дисфункція лівого шлуночка, легенева гіпертензія, вегетативний дисбаланс та застосування медикаментозних засобів, зокрема групи метилксантинів і β₂-адренергічних агоністів.

Багаточисельні експериментально-клінічні дослідження визначили важливу роль гіпоксії в ініціації процесу інтенсифікації перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), основною мішенню впливу його кінцевих продуктів стають клітинні мембрани [6]. Найбільшу чутливість до дії

активних продуктів ПОЛ проявляють сульфгідрильні або тіолові групи, зокрема ферменти та йонні канали [4]. У разі інтенсифікації процесу окислення тіолових груп білкових молекул відбувається зниження резистентності біомембран та втрата ними бар'єрних функцій. Встановлено, що при порушенні бар'єрної функції клітинних мембран відбувається зниження клітинного енергетичного потенціалу, що негативно позначається на функціональній активності мембранних аденозинтрифосфатаз (АТФ-аз) [3]. Так зниження активності ключової Na/K-АТФ-ази супроводжується послабленням трансмембранного потенціалу (ТМП) та дестабілізацією біоелектричних процесів на рівні структурних одиниць серця [5].

Згідно даних наукових публікацій порушення серцевого ритму у хворих на ХОЗЛ виявляється в 50–84 %, причому при ХОЗЛ GOLD 1–2 реєструються переважно надшлуночкові тахіаритмії, тоді як при ХОЗЛ GOLD 3–4 як надшлуночкові, так і шлуночкові тахіаритмії.

Отже, структурні зміни на рівні біомембран при ХОЗЛ, ініційовані посиленням окислювальних реакцій, негативно позначаються на біоелектричних процесах кардіоміоцитів, що проявляється зниженням активності мембранозв'язаних ферментів, послабленням ТМП та виникненням аритмій серця.

Мета дослідження: оцінити стан окислювальної модифікації білків (ОМБ) плазми крові та йонотранспортних АТФ-аз еритроцитів при аритміях серця у хворих на ХОЗЛ (GOLD 2) у фазі загострення.

Матеріал і методи

В дослідження включено 20 пацієнтів (15 чоловіків і 5 жінок) віком від 44 до 62 років з діагнозом ХОЗЛ GOLD 2 у фазі загострення, які перебували на стаціонарному лікуванні в пульмонологічному відділенні Київської міської клінічної лікарні № 3. Контрольну групу склали 20 здорових осіб.

Всім пацієнтам основної та контрольної груп проводились загальноклінічні та лабораторно-інструментальні методи дослідження, зокрема дослідження функції зовнішнього дихання, ЕКГ діагностику, проведення в динаміці ехокардіографії (ЕхоКГ), добового ЕКГ-моніторингу, визначення показників ОМБ у плазмі крові та активності АТФ-аз в мембранах еритроцитів.

Дослідження показників функції зовнішнього дихання проводилось за допомогою комп'ютерного спірограма «Spiroset-3000» з визначенням показників форсованого видиху, часових та швидкісних параметрів дихального циклу.

Добове ЕКГ-моніторування проводилось з використанням апарату Mortara H3 (США) з обробкою результатів за допомогою системи аналізу H-Scribe. Визначали середню ЧСС за добу, кількість суправентрикулярних та шлуночкових екстрасистол за добу, епізоди суправентрикулярної, шлуночкової тахікардії і пароксизмів фібриляції передсердь. Ступінь ризику раптової коронарної смерті при шлуночкової екстрасистолії оцінювали згідно критеріїв Лауна.

Ехокардіографія проводилась в М-режимі з визначенням кінцево-діастолічного і кінцево-систоличного

об'ємів (КДО, мл; КСО, мл), кінцево-систоличного і кінцево-діастолічного розмірів (КСР, см; КДР, см), ударного об'єму (УО, мл), фракції викиду (ФВ, %).

Дослідження ОМБ плазми крові проводилось за методом Дубініної О. Є. та співавторів [2], що ґрунтується на реакції взаємодії амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідразиним з утворенням його похідних. Реєстрація похідних 2,4-динітрофенілгідразинів проводилась при довжинах хвиль збудження 356,370, 430 та 530 нм.

Рівень трансмембранних АТФ-аз визначався в мембранах еритроцитів і був виражений в мкмоль неорганічного фосфату на 1 мг білка мембран еритроцитів за годину. Відомо, що неорганічний фосфат — це продукт гідролізу АТФ, концентрація якого підвищується пропорційно активності ферменту. Статистичну обробку отриманих результатів проводили із використанням пакета програмного забезпечення Statistica.

Результати та їх обговорення

За результатами проведеного ретроспективного аналізу даних електрокардіографічного дослідження 80 пацієнтів, що перебували на стаціонарному лікуванні в пульмонологічному відділенні Київської міської клінічної лікарні № 3 з діагнозом ХОЗЛ GOLD 2 у фазі загострення, у 8 хворих (10 %) встановлено порушення серцевого ритму у варіанті ізольованих надшлуночкових екстрасистол (НШЕ). У 20 обстежених (25 %) зареєстровані епізоди синусової тахікардії.

Згідно результатів проведеного добового ЕКГ-моніторингу у переважній більшості пацієнтів основної групи були виявлені: екстрасистолічна аритмія — часті ізольовані, парні надшлуночкові і шлуночкові екстрасистолі (ШЕ), епізоди ранньої (R на T) ШЕ, пароксизми суправентрикулярної і шлуночкової тахікардії.

Серед обстежених з виявленими аритміями серця у 15 % випадків були зареєстровані життєвонебезпечні порушення серцевого ритму, зокрема епізоди нестійкої шлуночкової тахікардії та ранньої шлуночкової екстрасистолії, що потребувала надання екстреної медичної допомоги та проведення контрольного добового ЕКГ-моніторингу.

При оцінці стану ОМБ плазми крові відзначено посилення процесу катаболізму білкових структур, що проявлялось збільшенням вмісту продуктів ОМБ переважно основного характеру (табл. 1).

Таблиця 1

Стан окислювальної модифікації білків плазми крові

Групи обстежених	Довжина хвиль збудження (λ), нм			
	356	370	430	530
Основна група (n = 20)	3,16 ± 0,26	3,11 ± 0,27	1,91 ± 0,20	0,46 ± 0,07*
Контрольна група (n = 20)	3,29 ± 0,09	3,27 ± 0,09	1,76 ± 0,06	0,31 ± 0,03

Примітка: * — вірогідність відміни показника порівняно з контрольною групою (p < 0,05)

Встановлено статистично достовірне зростання рівня продуктів ОМБ при λ 530 нм, тоді як при λ 430 нм відзначено збільшення його лише на 8,5 % (p > 0,005). 3

боку показників продуктів ОМБ нейтрального характеру (λ 356 нм, 370 нм) спостерігалась лише тенденція до їх зменшення. Посилення катаболічних процесів білкових структур переважно при λ 530 нм і 430 нм імовірно зумовлено ступенем окислення амінокислотних залишків різних амінокислотних груп. Виявлену закономірність до зменшення рівня продуктів ОМБ нейтрального характеру можна пояснити з позиції напруження адаптаційних механізмів, а також дисинхронізованою зміною концентрації продуктів ПОЛ і ОМБ, коли при збільшенні вмісту продуктів ПОЛ зменшується рівень продуктів ОМБ.

У пацієнтів, при добовому ЕКГ-моніторингу яких були виявлені життєвонебезпечні порушення серцевого ритму, зокрема ранні (R на T) ШЕ та нестійкі пароксизми шлуночкові тахікардії, відзначено достовірне збільшення вмісту продуктів ОМБ як основного, так і нейтрально-го характеру.

Внаслідок посилення процесу окислення білкових молекул створюються сприятливі передумови для ініціації вільнорадикальних реакцій (ВР) та їх взаємодії з процесом ОМБ. Найпершими мішенями їх впливу стають біомембрани. На рівні клітинних мембран відбувається посилення дестабілізаційних процесів. Утворення при окисненні білкових молекул так званим агрегатом сприяє посиленню процесу блокування функції мембранних АТФаз та пригніченню їх функціональної активності.

Як видно з наведених в таблиці 2 даних, посилення процесу окислення білкових молекул супроводжується достовірним зменшенням рівня Na/K-АТФ-ази. Зниження рівня ключової АТФ-ази сприяє порушенню процесу регулювання осмотичного тиску, розбалансуванню йонних потоків та неасиметричним їх розподіленням [1, 4].

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров, Ю. А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран [Текст] / Ю. А. Владимиров // Биофизика. — 1987. — Т. XXII, вып. 5. — С. 830–841.
2. Дубинина, Е. Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, методы её определения [Текст] / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов, И. Г. Порохов // Вопросы мед. химии. — 1995. — Т. 41, № 1. — С. 24–26.
3. Ковальський, П. П. Вивчення активності Na/K-АТФази за ішемії міокарда [Текст] / П. П. Ковальський // Медицина транспорту України. — 2007. — № 3. — С. 17–20.
4. Львовская, Е. И. Соотношение уровней липидной пероксидации и окислительной модификации белков у студентов 17–23 лет [Текст] / Е. И. Львовская, Е. Н. Саханкова // Вестник ЮУрГУ. — 2012. — № 21. — С. 112–116.
5. Меерсон, Ф. З. Влияние стресса на трансмембранный потенциал кардиомиоцитов работающего сердца и его восстановление после гипотермии [Текст] / Ф. З. Меерсон, И. Л. Ясинский, Ю. П. Козлов, А. В. Болотов // Биол. экспер. биол. и мед. — 1986. — № 12. — С. 674–675.
6. Сазонтова, Т. Г. Выявление с помощью термоденатурации поврежденных Na-насоса сарколеммы миокарда при стрессе и роль перекисного окисления липидов в этом процессе [Текст] / Т. Г. Сазонтова // Биол. экспер. и биол. мед. — 1986. — № 12. — С. 685–687.
7. Barnes, P. J. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Effects beyond the Lungs. — Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1000220>.
8. Corsonello, A. Comorbidities of chronic obstructive pulmonary disease [Text] / A. Corsonello, R. A. Incalzi, R. Pistelli, et al. — Режим доступу: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22209926.
9. Monnino, D. M. Interpreting lung function data using 80 % predicted and fixed thresholds identifies patients at increased risk of mortality [Text] / D. M. Monnino, E. Diaz-Guzman // Chest. — 2012. — Vol. 141. — P. 73–80.
10. Pedone, C. Does mild COPD affect prognosis in the elderly? [Text] / C. Pedone // BMC Pulm. Med. — 2010. — Vol. 10. — P. 35.
- 11/ Фещенко, Ю. И. Хроническое обструктивное заболевание легких — актуальная медико-социальная проблема [Текст] / Ю. И. Фещенко // Укр. пульмон. журнал. — 2011. — № 2. — С. 6–8.

Таблиця 2

Активність транспортних АТФ-аз еритроцитів

Групи обстежених	АТФ-ази, мкмоль/Ph/год		
	Загальна	Na/K	Mg
Контрольна група (n = 20)	6,32 ± 0,20	3,44 ± 0,12	2,92 ± 0,10
Основна група (n = 20)	5,47 ± 0,40*	2,01 ± 0,22*	3,48 ± 0,33

Примітка: * — вірогідність відміни показника порівняно з контрольною групою (p < 0,05)

Внаслідок послаблення функції Na/K-насоса відбувається зниження ТМП, що супроводжується порушенням електричної стабільності міокарда. Безпосереднім наслідком цього було порушення серцевого ритму, що підтверджено даними добового ЕКГ-моніторингу. Так, зниження рівня Na/K-АТФ-ази в 1,4 і більше разів асоціювалось з життєвонебезпечними порушеннями серцевого ритма. Встановлене підвищення рівня Mg-АТФ-ази, на нашу думку, має компенсаторний характер, спрямований на відновлення рівня Na/K-АТФ-ази.

Висновки

При ХОЗЛ GOLD 2 у фазі загострення спостерігається посилення процесу окислення тіолових груп білкових молекул плазми крові, що проявляється зниженням бар'єрної функції біомембран та транспортних АТФ-аз.

Зниження активності ключової Na/K-АТФ-ази сприяє ініціації електричної нестабільності міокарда та посиленню процесу аритмогенезу. Низький рівень Na/K-АТФ-ази асоціюється з високим ризиком виникнення життєвонебезпечного порушення серцевого ритму, що може завершитись раптовою смертю.

REFERENCES

1. Vladimirov YuA. Svobodnoradikalnoye oksileniye lipidov i fizicheskiye svoystva lipidnogo sloya biologicheskikh membran (Free radical oxidation of lipids and physical properties of the lipid layer of biological membranes). *Biofizika*. 1987;No 5(XXXII): 830–841.
2. Dubinina YeYe, Burmistrov SO, Khodov DA, Porotov IG. *Oksilitel'naya modifikatsiya belkov syvorotki krovi cheloveka, metody yeye opredeleniya* (Oxidative modification of proteins, human serum, the methods of its determination). *Voprosy med. khimii*. 1995;No 1(41):24–26.
3. Kovalsky PP. *Vyvchennya aktyvnosti Na/K-ATfazy za ishemiyi miokarda* (Studying the activity of Na/K-ATPase on myocardial ischemia). *Medytsyna transportu Ukrainy*. 2007;No 3:17–20.
4. Lvovskaya Yel, Sakhankova YeN. *Sootnosheniye urovney lipidnoy peroksidatsii i oksilitel'noy modifikatsii belkovu studentov 17–23 let* (The ratio of levels of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins in students 17–23 years). *Vestnik YuUrGU*. 2012;No 21:112–116.
5. Meyerson FZ, Yasin'skiy IL, Kozlov YuP, Bolotov AV. *Vliyaniye stressa na transmembra'nyy potentsial kardiomiotsitov rabotayushchego serdtsa i yego vosstanovleniye posle gipotemii* (The impact of stress on the membrane potential of cardiomyocytes of working heart and his recovery from hypothermia). *Biol. eksper. biol. i med.* 1986;No 12:674–675.
6. Sazontova TG. *Vyyavleniye s pomoshchyu termodenaturatsii povrezhdeniy Na-nasosa sarkolemly miokarda pri stresse i rol perekisnogo oksileniya lipidov v etom protsesse* (Identification via denaturation damage sarkolemly Na-pump myocardium under stress and the role of lipid peroxidation in the process). *Byul. eksper. biol. med.* 1986;No 12:685–687.
7. Barnes PJ. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Effects beyond the Lungs. Available at: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1000220>.
8. Corsonello A, Incalzi RA, Pistelli R, et al. Comorbidities of chronic obstructive pulmonary disease. Available at: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22209926.
9. Monnino DM, Diaz-Guzman E. Interpreting lung function data using 80 % predicted and fixed thresholds identifies patients at increased risk of mortality. *Chest*. 2012;141:73–80.
10. Pedone C. Does mild COPD affect prognosis in the elderly? *BMC Pulm. Med*. 2010;10:35.
11. Feshchenko Yul. *Khronicheskoye obstruktyvnoye zabolevaniye legkikh — aktual'naya mediko-sotsial'naya problema* (Chronic obstructive pulmonary disease — current medical and social problem). *Ukr. Pulmonol. Zhurnal*. 2011;No 2:6–8.