

## БЕЛКОВЫЙ ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС ПРИ СОЧЕТАННОЙ РЕСПИРАТОРНО-КАРДИАЛЬНОЙ КОМОРБИДНОСТИ

© Ахминеева А.Х., Полунина О.С., Севостьянова И.В., Воронина Л.П., Полунина Е.А.

Кафедра внутренних болезней педиатрического факультета  
Астраханского государственного медицинского университета, Астрахань  
E-mail: [irina-nurzhanova@yandex.ru](mailto:irina-nurzhanova@yandex.ru)

В работе была изучена активность перекисного окисления белков по уровню карбонильных производных у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких (35 человек), с ишемической болезнью сердца (35 человек), с артериальной гипертензией (35 человек) и при сочетанной респираторно-кардиальной патологии: хроническая обструктивная болезнь лёгких + ишемическая болезнь сердца (40 человек) и хроническая обструктивная болезнь лёгких + артериальная гипертензия (40 человек). Доказано, что присоединение ишемической болезни сердца у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких ассоциируется с увеличением активности процессов перекисного окисления белков. При этом активная перекисная окислительная реакция белковых молекул приводит к дисфункции эндотелия с гиперсекрецией вазоконстрикторов. В группе пациентов с сочетанием хроническая обструктивная болезнь лёгких + ишемическая болезнь сердца была выявлена корреляционная взаимосвязь между уровнем карбонильных производных и уровнем эндотелина-1 ( $r = 0.613$   $p < 0.001$ ), подтверждающая сделанный вывод.

**Ключевые слова:** окислительный стресс, перекисное окисление белков, хроническая обструктивная болезнь лёгких, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия.

### PROTEIN OXIDATIVE STRESS IN COMBINED RESPIRATORY-CARDIAC COMORBIDITY

*Akhmineeva A.Kh., Polunina O.S., Sevostyanova I.V., Voronina L.P., Polunina E.A.*

Department of Internal Diseases of Pediatric Faculty of Astrakhan State Medical University, Astrakhan

In the paper we have studied the activity of peroxide oxidation of proteins according to the level of carbonyl derivatives in patients with chronic obstructive pulmonary disease (35 patients), ischemic heart disease (35 patients), arterial hypertension (35 patients), and combined respiratory cardiac pathology: chronic obstructive pulmonary disease + ischemic heart disease (40 patients) and chronic obstructive pulmonary disease + arterial hypertension (40 patients). It has been proved that comorbid ischemic heart disease in patients with chronic obstructive pulmonary disease is associated with an increased activity of processes of protein peroxidation, the active peroxidation of protein molecules leading to endothelial dysfunction with hypersecretion of vasoconstrictors. In the group of patients with the combination of chronic obstructive pulmonary disease + ischemic heart disease we have found a correlation between the level of carbonyl derivatives and the level of endothelin-1 ( $r=0.613$   $p<0.001$ ), that confirms our conclusion.

**Keywords:** oxidative stress, peroxide oxidation of proteins, chronic obstructive pulmonary disease, ischemic heart disease, arterial hypertension.

К настоящему моменту накоплены многочисленные данные о важной патогенетической роли перекисного окисления липидов, являющегося неотъемлемой составляющей окислительного стресса, при различных видах патологических состояний организма [1, 6, 10, 11]. Вместе с тем, как свидетельствуют исследования последних лет, влияние активных форм кислорода наряду с липидами распространяется и на белки, в том числе на белковые компоненты ферментов, рецепторов, ионных каналов плазматических мембран, определяющих возможность нормального функционирования различных клеток и тканей в целостном организме [4, 12]. Посттрансляционная модификация белка является начальной реакцией клетки на изменение условий её функционирования, а её продукты (карбонильные производные) являются

маркерами раннего окислительного стресса. Одновременно с этим модификации белка, облегчающие его протеолитический распад, служат сигналами для изменения метаболизма клетки, а также участвуют в срочной адаптации клетки к изменившимся условиям [5].

Поэтому исследование процессов свободно-радикального окисления белков при патологии бронхолёгочной системы, в частности при хронической обструктивной болезни лёгких (ХОБЛ), является одним из перспективных направлений, способных внести реальный вклад в понимание патогенеза заболевания. Кроме того, свободные радикалы кислорода, воздействуя на клетки эндотелия, вызывают развитие эндотелиальной дисфункции [2, 8], что может играть важную роль в патогенезе развития артериальной гипертензии (АГ) и ишемической болезни сердца (ИБС) у пациентов с ХОБЛ.

Целью исследования стало изучение активности перекисного окисления белков по уровню карбонильных производных при сочетанной респираторно-кардиальной патологии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках реализации гранта Президента РФ по государственной поддержке молодых ученых – кандидатов наук за проект «Эндотелиальная дисфункция и оксидативный стресс в развитии респираторно-кардиальной коморбидности» (МК-5572.2013.7). Проведение данного клинического исследования одобрено Региональным независимым этическим комитетом (заседание РНЭК от 17.09.2012, протокол № 2).

В общей сложности было обследовано 212 человек в возрасте от 50 до 65 лет. Динамическое наблюдение за пациентами и их комплексное лабораторное и инструментально-функциональное обследование осуществлялось в условиях объединения стационар-поликлиника ГБУЗ Астраханской области «Городская клиническая больница № 4 имени В.И. Ленина». Были выделены 6 групп пациентов: пациенты с ХОБЛ 2-3 стадии вне обострения (35 человек), пациенты с ИБС: стенокардией напряжения 2-3 функционального класса (35 человек), пациенты с АГ 2 стадии (35 человек), пациенты с сочетанием ХОБЛ+ИБС (40 человек), пациенты с сочетанием ХОБЛ+АГ (40 человек) и группа соматически здоровых лиц (27 человек).

Средний возраст обследованных больных составил  $62.9 \pm 1.1$  года. По половому признаку преобладали мужчины – 71.1%; женщин было – 28.9%. Средний возраст мужчин составил  $62.7 \pm 1.3$  года, женщин –  $60.2 \pm 2.2$  года. Средняя длительность заболевания –  $17.5 \pm 0.9$  года. У мужчин средняя длительность заболевания была статистически значимо ( $p < 0.05$ ) выше, чем у женщин ( $18.8 \pm 1.1$  против  $14.3 \pm 1.5$  года соответственно). У пациентов с сочетанием ХОБЛ+АГ, ХОБЛ+ИБС артериальная гипертензия и ишемическая болезнь сердца развились на фоне уже диагностированной хронической обструктивной болезни лёгких. Длительность АГ составила  $7.8 \pm 2.5$  года. Длительность ИБС –  $6.2 \pm 1.3$  года.

Диагноз ХОБЛ и стадии заболевания устанавливался по рекомендациям, представленным программой «Глобальной стратегии диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни лёгких» [3]. Диагноз стабильной стенокардии выставляли в

соответствии с Национальными рекомендациями Всероссийского научного общества кардиологов «Диагностика и лечение стабильной стенокардии» [7]. Диагноз АГ, определение стадии, расчёт риска развития осложнений определялись на основании данных анамнеза, лабораторных и инструментальных исследований согласно национальным рекомендациям по профилактике, диагностике и лечению АГ.

Исследование металл-катализируемой окислительной модификации белков в сыворотке крови проводилось по методу R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой (1995) посредством определения уровня карбонильных производных (КП) в сыворотке крови спектрофотометрическим методом с использованием 2,4-динитро-фенилгидразина. Определение С-реактивного протеина (СРП) проводили методом иммунотурбодиметрии с латексным усилением. Минимально определяемая концентрация СРП составила 0,1 мкг/мл. Для калибровки использовали коммерческий мультикалибратор «CRP (HS) Wide Range Multi - Calibrator Set НТI» фирмы «High Technology Inc.», США. Изучение уровня натрийуретического пептида типа С (НУПС) в образцах плазмы осуществлялось методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческой тест-системы «NT-proCNP» (каталожный номер BI-20872, фирма «Biomedica Medizinprodukte GmbH&Co KG», Австрия). Исследование уровня эндотелина-1 в образцах плазмы осуществлялось с помощью иммуноферментного набора для количественного определения эндотелина (1-21) в биологических жидкостях фирмы «Biomedica», Германия. Определение уровня фракталкина в образцах плазмы осуществлялось с помощью иммуноферментного набора для количественного определения фракталкина (CX3CL1) в биологических жидкостях с применением тест-системы «RayBio® Human Fractalkine», фирмы «RayBiotech, Inc.», США.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы STATISTICA 12.0, Stat Soft, Inc [9]. Для каждого показателя и групп наблюдений вычисляли медиану, верхний и нижний квартили. Объективную проверку на нормальность распределения проводили с помощью теста Колмогорова-Смирнова с коррекцией значимости по Лиллифору. Поскольку в большинстве групп признаки имели отличное от нормального распределение, то для проверки статистических гипотез при сравнении числовых данных двух несвязанных групп использовали Mann-Whitney test, при сравнении трёх несвязанных групп использовали Kruskal-Wallis ANOVA test. Оценка интенсивности

корреляционной связи проводилась с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена. Критический уровень статистической значимости принимали 5% ( $p = 0,05$ ).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из таблицы 1, уровень КП при мононозологии был статистически значимо выше, чем в группе соматически здоровых лиц. Так, медиана уровня КП при АГ составила 6.7 ед. опт. пл./мл, интерквартильные и интерпроцентильные размахи [6.45; 8.8] [6.03; 9.34] ед. опт. пл./мл против 5.9 [5.81; 6.1] [5.6; 6.43] ед. опт. пл./мл в группе соматически здоровых лиц ( $p = 0,005$ ).

В группе больных ИБС медиана уровня КП составила 8.7 ед. опт. пл./мл, интерквартильные и

интерпроцентильные размахи [7.43; 9.48] [6.74; 10.13] мкмоль/л, что было статистически значимо выше как по сравнению с группой соматически здоровых лиц ( $p < 0.001$ ), так и по сравнению с группой больных АГ ( $p = 0.001$ ). Таким образом, у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (АГ, ИБС) в процессы перекисного окисления активно вовлекаются не только липидные, но и белковые молекулы, что может выступать самостоятельным фактором повреждения сосудов и развитием дисфункции эндотелия, являющейся основой патогенеза данных заболеваний. Данное предположение подтверждалось наличием корреляционной взаимосвязи между уровнем КП и уровнем эндотелина-1 как в группе больных АГ ( $r = 0.45$   $p = 0.003$ ), так и в группе больных ИБС ( $r = 0.52$   $p = 0.001$ ).

Таблица 1

Уровень карбонильных производных у пациентов с респираторно-кардиальной коморбидностью

Группа сравнения	Медиана ед. опт. пл./мл	Квартили: нижний; верхний	Процентили: 5; 95	Критерий сравнения и уровень статистической значимости, p
Соматически здоровые лица (контроль 1), n=27	5.9	5.81; 6.1	5.6; 6.43	
Больные артериальной гипертензией (контроль 2), n=35	7.6	6.45; 8.8	6.03; 9.34	$p_1=0.005$
Больные ишемической болезнью сердца (контроль 3), n=35	8.7	7.43; 9.48	6.74; 10.13	$p_1<0.001$ $p_2=0.001$
Больные хронической обструктивной болезнью лёгких (контроль 4), n=35	19.89	17.25; 24.23	7.76; 26.83	$p_1<0.001$ $p_2<0.001$ $p_3<0.001$
Пациенты с сочетанием хроническая обструктивная болезнь лёгких + артериальная гипертензия, n=40	21.05	18.83; 25.65	16.56; 26.68	$p_1<0.001$ $p_2<0.001$ $p_4=0.141$
Пациенты с сочетанием хроническая обструктивная болезнь лёгких + ишемическая болезнь сердца, n=40	26.22	24.28; 28.54	18.51; 30.16	$p_1<0.001$ $p_3<0.001$ $p_4<0.001$ $p_5<0.001$
				H (df=2; n=110) =51.93 $p_6<0.001$ H (df=2; n=110) =60.85 $p_7 <0.001$

*Примечание:*

- $p_1$  – уровень статистической значимости различий с группой соматически здоровых лиц (контроль 1) Mann-Whitney test  
 $p_2$  – уровень статистической значимости различий с группой больных артериальной гипертензией (контроль 2) (Mann-Whitney test)  
 $p_3$  – уровень статистической значимости различий с группой больных ишемической болезнью сердца (контроль 3) (Mann-Whitney test)  
 $p_4$  – уровень статистической значимости различий с группой больных хронической обструктивной болезнью лёгких (контроль 4) (Mann-Whitney test)  
 $p_5$  – уровень статистической значимости различий с группой больных хронической обструктивной болезнью лёгких в сочетании с артериальной гипертензией (Mann-Whitney test)  
 $p_6$  – уровень статистической значимости межгрупповых различий в группах больных АГ, ХОБЛ, ХОБЛ+АГ (Kruskal-Wallis ANOVA test)  
 $p_7$  – уровень статистической значимости межгрупповых различий в группах ИБС, ХОБЛ, ХОБЛ+ИБС (Kruskal-Wallis ANOVA test)

У пациентов с ХОБЛ медиана уровня КП составила 19.89 мкмоль/л, интерквартильные и интерпроцентильные размахи [17.25; 24.23] [7.76; 26.83] мкмоль/л, что было статистически значимо ( $p < 0.001$ ) выше как по сравнению с группой соматически здоровых лиц, так и по сравнению с группами больных АГ и ИБС. Эти данные указывают на большую активацию процессов перекисного окисления белковых молекул при ХОБЛ, по сравнению с сердечно-сосудистыми заболеваниями (АГ, ИБС). На наш взгляд, это связано с большей выраженностью системного воспаления при ХОБЛ, что подтверждалось наличием в группе больных ХОБЛ статистически значимой зависимости средней силы между уровнем КП и уровнем СРП ( $r = 0.615$   $p < 0.001$ ), отражающей усиление пероксидации белков при увеличении системной воспалительной активации. Кроме того, была выявлена прямая корреляционная взаимосвязь средней силы между уровнем КП и уровнем плазменного факталькина ( $r = 0.633$   $p < 0.001$ ). Эта взаимосвязь указывала на то, что именно возрастание уровня цитокинов-хемокинов способствует увеличению пероксидации белковых молекул. У пациентов с сердечно-сосудистой патологией статистически значимых корреляционных взаимосвязей между показателями воспаления и перекисного окисления белков выявлено не было.

Таким образом, была выявлена избыточная активация процессов перекисного окисления белков как у пациентов с ХОБЛ, так и у пациентов с сердечно-сосудистой патологией (АГ, ИБС). У пациентов с ХОБЛ была обнаружена связь между воспалительной активностью и активацией перекисного окисления белков. У пациентов с АГ и ИБС статистически значимых корреляционных взаимосвязей между показателями воспаления и перекисного окисления белков выявлено не было.

В группе больных с сочетанием ХОБЛ+АГ медиана уровня КП составила 21.05 ед. опт. пл./мл, интерквартильные и интерпроцентильные размахи [18.83; 25.26] [16.56; 26.68] ед. опт. пл./мл, что было статистически значимо выше по сравнению с группой соматически здоровых лиц ( $p < 0.001$ ). При межгрупповом сравнении уровня КП в группах больных АГ, ХОБЛ, ХОБЛ+АГ (Kruskal-Wallis ANOVA test) различия были статистически значимы –  $H$  ( $df = 2$ ;  $n = 110$ ) = 51.93  $p_6 < 0.001$ ), однако при попарном сравнении в группе больных с сочетанием ХОБЛ+АГ уровень КП был статистически значимо выше, чем в группе больных АГ ( $p < 0.001$ ), а различия с группой больных ХОБЛ были статистически незначимы ( $p = 0.141$ ).

Таким образом, у пациентов с сочетанием ХОБЛ+АГ уровень КП значимо превышает таковой у больных АГ, но сопоставим с уровнем КП при ХОБЛ. Данный факт позволил нам сделать вывод, что присоединение АГ у больных ХОБЛ не оказывает значимого влияния на исходно высокую активность перекисного окисления белков, которая, однако может иметь значение в развитие АГ при ХОБЛ, инициируя и поддерживая эндотелиальную дисфункцию, что подтверждалось наличием корреляционной взаимосвязи между уровнем эндотелина-1 и уровнем КП в группе больных с сочетанием ХОБЛ+АГ ( $r = 0.54$   $p = 0.001$ ). Также в данной группе была выявлена средней силы прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем КП и уровнем НУПС ( $r = 0.48$   $p = 0.002$ ), отражающая связь между выработкой «замещающих» вазодилаторов, связанной с дефицитом оксида азота, и активацией перекисного окисления белковых молекул, то есть взаимосвязь между усугублением эндотелиальной дисфункции и нарастанием оксидативного стресса с вовлечением не только липидных, но и белковых молекул.

В группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС медиана уровня КП составила 26.22 ед. опт. пл./мл, интерквартильные и интерпроцентильные размахи [24.28; 28.54] [18.51; 30.16] мкмоль/л, что было статистически значимо выше по сравнению с группой соматически здоровых лиц ( $p < 0.001$ ). При межгрупповом сравнении уровня КП в группах больных ИБС, ХОБЛ, ХОБЛ+ИБС (Kruskal-Wallis ANOVA test) различия были статистически значимы –  $H$  ( $df = 2$ ;  $n = 110$ ) = 60.85  $p_7 < 0.001$ . При попарном сравнении в группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС уровень КП был статистически значимо выше как по сравнению с группой больных ИБС ( $p < 0.001$ ), так и по сравнению с группой больных ХОБЛ ( $p < 0.001$ ).

Таким образом, присоединение ИБС у пациентов ХОБЛ ассоциируется с увеличением активности процессов перекисного окисления белков. Возможно, что активная пероксидация белковых молекул, сопровождающаяся образованием большого количества свободных радикалов, приводит к повреждению эндотелиального внутрисосудистого слоя, дисфункции эндотелия с гиперсекрецией вазоконстрикторов и образованию атеросклеротических бляшек, тем самым способствуя развитию и прогрессированию ИБС. В группе пациентов с сочетанием ХОБЛ+ИБС, как и в группе пациентов с ХОБЛ+АГ, была выявлена корреляционная взаимосвязь между уровнем КП и уровнем эндотелина-1 ( $r = 0.613$

$p < 0.001$ ), подтверждающая сделанный вывод. Также в группе пациентов с сочетанием ХОБЛ+ИБС, как и в группе пациентов с ХОБЛ+АГ, была выявлена прямая корреляционная связь между уровнем КП и уровнем НУПС. Сила корреляционной взаимосвязи в группе больных с сочетанием ХОБЛ+ИБС была выше ( $r = 0.68$   $p < 0.001$ ), чем в группе пациентов с ХОБЛ+АГ, что, по нашему мнению, связано с более высоким уровнем оксидативного стресса и большей выраженностью дисфункции эндотелия у пациентов с сочетанием ХОБЛ+ИБС.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Беднякова А.В., Полунина О.С., Воронина Л.П., Нуржанова И.В. Множественный регрессионный анализ для оценки степени тяжести бронхиальной астмы // Астраханский медицинский журнал. – Т. 6, № 1. – 2011. – С. 36-39.
2. Воронина Л.П., Полунина О.С., Севостьянова И.В., Кудряшева И.А., Кагин А.В. Влияние оксидативного стресса на микрососудистый эндотелий при бронхиальной астме // Астраханский медицинский журнал. – Т. 8, № 4. – 2013. – С. 54-57.
3. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни лёгких (пересмотр 2011 г.) / Пер. с англ. под ред. А.С. Белевского. – М.: Российское респираторное общество, 2012. – 80 с., ил.
4. Губский Ю.И., Беленичев И.Ф. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях // Современные проблемы токсикологии. – 2005. – № 3. – С. 126-135.
5. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток: (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клиничко-биохимические аспекты. – СПб.: Медицинская пресса, 2006. – 397 с.
6. Задионченко В.С., Адашева Т.В., Фёдорова И.В., Павлов С.В., Ли В.В., Нестеренко О.И. Артериальная гипертензия и хроническая обструктивная болезнь лёгких: патогенетические параллели и клиничко-функциональные особенности // Кардиосоматика. – 2010. – Т. 1, № 1. – С. 31-37.
7. Оганов Р.Г., Мамедов М.Н. Национальные клинические рекомендации Всероссийского научного общества кардиологов. Пересмотр 2009 года / под ред. Р.Г. Оганова. – М.: МЕДИ Экспо, 2009. – 389 с.
8. Полунина О.С., Воронина Л.П., Севостьянова И.В. Роль оксидативного стресса в развитии дисфункции эндотелия при бронхиальной астме // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – № 5. – С. 127-131.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
10. Соодаева С.К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания // Пульмонология. – 2006. – Т. 5, № 4. – С. 122-126.
11. Сыровая А.О., Леонтьева Ф.С., Новикова И.В., Иванникова С.В. Биологическая роль свободных радикалов в развитии патологических состояний // Международный медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 98-104.
12. Фомина М.А., Шумская Е.И., Фомина Н.В. Окислительная модификация белков плазмы крови при тромбозах // Астраханский медицинский журнал. – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 234-235.