

DOI :10.31718/2077-1096.18.4.65

УДК 616.24-002:616.12-008.331.1

Тягла О.С.

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ АПОПТОТИЧНИХ МАРКЕРІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ НА ТЛІ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Запорізький державний медичний університет

Відомо, що і хронічне обструктивне захворювання легень, і артеріальна гіпертензія являються мультифакторіальними захворюваннями та розвиваються внаслідок складної взаємодії генетичних факторів та чинників зовнішнього середовища. Метою даного дослідження було вивчення метаболізму каспази-7 та каспази-9 у пацієнтів на тлі хронічного обструктивного захворювання легень в поєднанні з артеріальною гіпертензією. Матеріали та методи. Було обстежено 23 хворих з діагнозом гіпертонічна хвороба II стадії і хронічного обструктивного захворювання легень II стадії без клінічно значущої супутньої патології. Вміст каспази-7 і каспази-9 в плазмі крові визначали з використанням відповідних тест-систем ІФА (виробник - Bender Medsystems, Австрія) в Навчальному медико-лабораторному центрі ЗДМУ згідно з доданою до набору інструкцією. Результати дослідження. Аналіз динаміки досліджуваних цистеїнових протеаз свідчить про статистично значущу елевацію даних маркерів апоптозу в умовах артеріальної гіпертензії та хронічного обструктивного захворювання легень. Значення каспази-7 в когорті хворих на хронічне обструктивне захворювання легень + артеріальна гіпертензія істотно перевищувало аналогічні для груп хворих із монопатологією у вигляді артеріальної гіпертензії або хронічного обструктивного захворювання легень, і складало в середньому $0,41 \pm 0,09$ нг / мл. Суттєва статистично значуща елевація рівня каспази-9 у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень + артеріальна гіпертензія до $2,16 \pm 0,29$ нг / мл порівняно з іншими групами також свідчить на користь більш значної індукції апоптотичних процесів при коморбідній патології, ніж при ізольованій артеріальній гіпертензії або хронічному обструктивному захворюванні легень. Висновок. Отримані результати потребують подальшого уточнення характеру взаємозв'язку зміни метаболізму цистеїнових протеаз і первинності патогенетичних процесів в механізмах формування ризику розвитку ускладнень і прогресування вентиляційних порушень у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень у поєднанні з артеріальною гіпертензією.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, хронічне обструктивне захворювання легень, апоптоз, каспаза-7, каспаза-9.

Дана стаття є фрагментом НДР кафедри клінічної фармакології, фармації, фармакотерапії і косметології ЗДМУ «Клініко-біохімічні та морфологічні аспекти діагностики та можливості фармакотерапевтичної корекції кардіоваскулярної патології у осіб різних вікових груп», № держ. реєстрації 0114U001393.

Вступ

Відомо, що і хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ), і артеріальна гіпертензія (АГ) являються мультифакторіальними захворюваннями та розвиваються внаслідок складної взаємодії генетичних факторів та чинників зовнішнього середовища [1]. В останні роки спостерігається достовірне зростання числа хворих із даною коморбідною патологією, зокрема і в Україні. ХОЗЛ у поєднанні з АГ являється дуже важливою медико-соціальною проблемою, поширеність цієї коморбідної патології складає у середньому 34,3%, коливаючись в межах 17–70%, а за даними аутопсії – до 85%. Розвиток інвалідності та втрати працездатності в результаті цих захворювань призводять до значних прямих та непрямих економічних витрат, що складає серйозне навантаження на кошторис суспільства і органів охорони здоров'я, у зв'язку із чим актуальність вивчення цього питання не викликає сумнівів. В сучасній літературі існує чимало робіт, присвячених вивченню перебігу поєднаної патології ХОЗЛ та АГ, проте деякі дані і досі є дискусійними та викликають певні протиріччя [2,3].

Існують дані про те, що у хворих з генетично

обумовленою гіпертензією відбувається посилення апоптозу з віком. Причому воно передре значним змінам артеріального тиску. У нещодавньому дослідженні Хасанова Н.Р. показано, що в осіб з обтяженим сімейним анамнезом по АГ і хворих на гіпертонічну хворобу більш високий систолічний АТ і діастолічний АТ асоційований із носійством генотипу Т3 в гені апоптоз-індукуючого фактора АІФ. Поліморфні маркери гена каспаз 9 CASP9 у хворих ГБ асоційовані з різними діапазонами (квартилями) швидкості Na^+-Li^+ -антитранспорта в мембрані еритроцита. Також поліморфізм GA в гені CASP9, за даними багатофакторного аналізу, є одним з основних факторів, що формує прогноз антигіпертензивної терапії і лікування ХОЗЛ [4].

Різні рецептори загибелі клітини активують єдиний для всіх тканин «каскад смерті» – каспазний каскад. Ці білки існують в цитоплазмі у вигляді проферментів з низькою каталітичною активністю, але після активації вони відіграють одну з ключових ролей в початковій і ефекторних стадіях апоптозу. Каспази належать до класу цистеїнових протеїназ, раніше відомих, як ICE (interleukin-1b-converting enzyme). За своєю структурою вони схожі з похідною гена CED-3 у нематоїди *C. Elegans*. В даний час у людини опи-

сано 11 різновидів каспаз. Вони можуть бути об'єднані в кілька груп по їх специфічності до субстрату і функцій. Першу групу представляють «початкові» ферменти (каспаз 8, 9, 10), необхідні для початку і поширення сигналу клітинної загибелі. До другої можна об'єднати аналоги CED-3 (каспаз 2, 3, 6, 7), які залучаються у стрімкий процес розщеплення структурних компонентів і елементів життєзабезпечення клітини (наприклад, PARP (полі-АДФ-рибоза-полімераза), що беруть участь в регуляції міжгенних взаємодій, відновленні ДНК і ядерної мембрани. Також до цієї групи належить і ряд ферментів, які беруть участь в ДНК-фрагментації. Третя категорія каспаз (1, 4, 5 і 13), іменовані ICE-подібні, можуть бути залучені в рівній мірі в процес клітинної смерті і запалення. Подібно тромбоцитопенії і комплементоутворенню, каскад каспаз діє за аутокаталітичною схемою, приводячи до значного посилення початкового сигналу до апоптозу. Цей процес регулюється різними кофакторами (фактор-1 активації протеаз апоптозу – АРАФ-1), інгібіторами посттрансляційного рівня, «білок-білок» взаємодією [5].

Деякі дослідники розглядають енергетичний дефіцит як можливий фактор індукції апоптозу клітин при артеріальній гіпертензії та ХОЗЛ. В результаті підвищення артеріального тиску розвивається хронічне перевантаження серця, при якому можливий помірний дефіцит енергії, обумовлений як зростанням споживання клітинами АТФ внаслідок збільшення навантаження на серцевий м'яз і розвитком гіпертрофії міокарда, так і деякою гіпоксією тканини, викликану зміною коронарного кровотоку. Недолік поповнення енергії в клітинах може також стати результатом кальцієвого перевантаження мітохондрій, що приводить до роз'єднання дихального ланцюга і окисного фосфорилування. Дефіцит АТФ, в свою чергу, порушує роботу іонних насосів і, поряд з кальцієвим перевантаженням, сприяє зниженню мембранного потенціалу мітохондрій і, як наслідок, відкриттю пор і вивільненню проапоптотичних факторів. Отже, гіпоксія і подальша зміна енергетичного балансу клітини можуть відігравати суттєву роль в порушенні рівноваги між виживанням і загибеллю клітин. При цьому спосіб клітинної загибелі залежить від ступеня невідповідності енергетичних потреб клітини і продукції енергії при мітохондріальному окисному фосфорилуванні. Так, було виявлено, що тимчасове і оборотне зниження вмісту АТФ в клітинах стимулює їх апоптотичну загибель, реалізується через активацію білка p53, формування апоптосоми і індукцію каспазного каскаду, в той час як значне зменшення клітинних запасів АТФ викликає некроз. Дане явище може бути пояснено тим, що самі апоптотичні процеси є енергозалежними, і їх здійснення не можливе в умовах вираженого енергетичного дефіциту. Певний внесок в ініціацію апоптотичної програми вносить окислювальний стрес, який активує ре-

цепторно-опосередкований шлях передачі апоптогенних сигналів. Проведені експерименти показали, що макроергічні препарати, антиоксиданти і селективні антагоністи ЕТА-рецепторів надають певний інгібуючий ефект на різні ланки апоптотичної програми. Дискримінантний аналіз даних, отриманих під час гістологічного і імуногістохімічного досліджень у спонтанно гіпертензивних щурів виявив, що застосовані препарати надавали найбільший ефект на загальну інтенсивність апоптозу, виражену у вигляді показника «індекс апоптозу» і, зокрема, на вміст білків Вах і p53 [6].

Слід особливо відзначити, що до теперішнього часу не визначено зв'язок між вмістом маркерів ендотеліальної дисфункції і апоптозу в периферичній крові і ступенем тяжкості стану пацієнтів, які страждають на гіпертонічну хворобу, ускладнену ХОЗЛ. До сих пір не встановлено, що є визначальним фактором прогресування ендотеліальної дисфункції та обумовленим нею ускладненням. Важливою подією в розвитку апоптозу є порушення фізико-хімічних властивостей мембран клітин. Апоптоз ендотеліоцитів судин або клітин периферичної крові може призводити до значної зміни в'язкості крові, утворення тромбів і прогресування локального запалення в судинній стінці, що також може супроводжуватися атерогенезом [7].

Мета дослідження

Вивчення метаболізму каспази-7 та каспази-9 у пацієнтів на тлі хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) в поєднанні з артеріальною гіпертензією (АГ).

Матеріали та методи дослідження

Було обстежено 23 хворих з діагнозом гіпертонічна хвороба (ГХ) II стадії і ХОЗЛ II стадії без клінічно значущої супутньої патології, середній вік $51,72 \pm 1,22$ (49,33-54,09) року (гендерний склад: 22 чоловіка і 1 жінка), статус паління можна порівняти з хворими на ХОЗЛ, 18 хворих ГХ обох статей у віці від 33 років до 67 року (середній вік $50,74 \pm 1,49$ (47,81-53,76) ; співвідношення чоловіки / жінки 17 / 83%), II стадії захворювання з рівнем АГ I-III ступеня, різного кардіоваскулярного ризику, без адекватної систематичної антигіпертензивної терапії, а також 18 пацієнтів з ХОЗЛ II стадії, середній вік $50,32 \pm 0,99$ (48,22-52,16) років (гендерний склад: 14 чоловіків і 4 жінки), тривалість захворювання $7,52 \pm 1,14$. 80% активні курці, індекс пачко-років $17,23 \pm 2,69$, на шкідливий професійний фактор (виробничий) вказали 23,53%. Всі обстежені висловили згоду на участь у проведенні дослідження.

Діагностика ХОЗЛ проводилася на підставі загальноприйнятих критеріїв. Хворі, які брали участь в дослідженні, мали переважно ХОЗЛ середнього і важкого ступеня (по GOLD).

Оцінювали рівень обсягу форсованого видиху за першу секунду (ОФВ1) і величину співвідно-

шення обсягу форсованого видиху за першу секунду до форсованої життєвої ємності легень (ОФВ1 / ФЖЕЛ). Визначення функції зовнішнього дихання здійснювалося за стандартною методикою на спірографічному апараті «СПІРОКОМ» з використанням програмного забезпечення відповідно до рекомендацій Американської торакальної та Європейської респіраторної спільноти. Всі пацієнти дали письмову добровільну згоду на участь в дослідженні та отримували традиційну терапію, відповідно до рекомендацій ВООЗ.

Вміст CASPASE-7 і CASPASE-9 в плазмі крові визначали з використанням відповідних тест-систем ІФА (виробник - Bender Medsystems, Австрія) в Навчальному медико-лабораторному центрі ЗДМУ згідно з доданою до набору інструкцією (зав. проф. Абрамов А.В.).

При статистичній обробці даних використовували ліцензійну програму «STATISTICA for Windows 6.1» (StatSoft Inc., США, серійний номер RGXR412D674002FWC7). Аналіз нормальності розподілу оцінювали за критерієм Shapiro-Wilk (W). Дані представлені у вигляді середнього і стандартної помилки репрезентативності вибір-

кового середнього значення (95% довірчий інтервал (95% ДІ)). Порівняння груп за якісною ознакою, а також при дослідженні частоти зустрічі показників проводили за допомогою критерію χ^2 з аналізом таблиць спряженості. Достовірними вважали відмінності при рівні значущості менше 0,05.

Результати дослідження та їх обговорення

Ми отримали наступні значення рівнів показників маркерів апоптозу каспаза-7 та каспаза-9 у експериментальних групах наших пацієнтів (табл. 1).

Пацієнти із АГ мали найнижчі значення каспази-7 серед досліджуваних груп – $0,11 \pm 0,02$ нг/мл, в той час як у хворих на ХОЗЛ цей показник був статистично достовірно ($p < 0,05$) вище на 72,73% - $0,19 \pm 0,04$ нг/мл. Пацієнти із коморбідною патологією в якості ХОЗЛ+АГ демонстрували статистично достовірну ($p < 0,05$) значну елевацію проапоптотичного маркера каспаза-7 до значень $0,41 \pm 0,09$ нг/мл, що на 272,73% вище порівняно із групою хворих на АГ, та на 115,79% більше порівняно із групою пацієнтів із ХОЗЛ.

Таблиця 1
Інтенсивність процесів апоптозу у обстежених осіб

Показник	Пацієнти із АГ	Пацієнти із ХОЗЛ	Пацієнти із ХОЗЛ на тлі АГ	Величина відмінностей		
	1	2	3	2 vs. 1	3 vs. 1	3 vs. 2
Каспаза-7, ng/mL	$0,11 \pm 0,02$ (0,05-0,15)	$0,19 \pm 0,04$ (0,11-0,27)*	$0,41 \pm 0,09$ (0,19-0,59)*#	72,73%	272,73%	115,79%
Каспаза-9, ng/mL	$1,45 \pm 0,23$ (1,1-1,9)	$1,27 \pm 0,29$ (0,71-1,84)	$2,16 \pm 0,29$ (1,58-2,73)*#	-12,41%	48,97%	70,08%

Примітка: * - $p < 0,05$ при порівнянні з підгрупою з АГ; # - $p < 0,05$ при порівнянні з підгрупою з ХОЗЛ

Динаміка каспази-9 була досить подібна динаміці каспази-7 у експериментальних групах. Наявність у хворих АГ призводило до підвищення рівня даної цистеїн-залежної аспартат-специфічної протеази до $1,45 \pm 0,23$ нг/мл, при обстеженні хворих із ХОЗЛ значення даного маркера становило $1,27 \pm 0,29$ нг/мл, тобто було на 12,41% вище. Найвищий рівень каспази-9 відзначався у третій групі хворих із ХОЗЛ+АГ – $2,16 \pm 0,29$ нг/мл, перевищуючи аналогічний показник першої групи пацієнтів із АГ майже на 50%, та другої групи із ХОЗЛ більше, ніж на 70%, відповідно статистично достовірно ($p < 0,05$). Тобто, коморбідна патологія сприяла більш високому рівню активації апоптотичних процесів в організмі хворих порівняно із групами із моноозологією.

Більш того, дослідження частоти зустрічі з аналізом таблиць спряженості показало, що в осіб у верхньому квартилі (більше 1,6 нг/мл) достовірно частіше реєструвалися прогностично негативні параметри функції зовнішнього дихання – ізольоване зниження ОФВ1 або ОФВ1 / ФЖЕЛ ($\chi^2 = 4,85$ при $p = 0,028$), а також показник частоти загострень в минулому році ($\chi^2 = 6,51$ при $p = 0,011$).

Ці дані вказують на потенційний асоціативний взаємозв'язок між динамікою загально визнаного

маркера активності апоптотичних процесів і різноманітністю респіраторних порушень при ХОЗЛ на тлі АГ. Для подальшого уточнення характеру взаємозв'язку зміни метаболізму цистеїнових протеаз і первинності патогенетичних процесів в механізмах формування ризику розвитку ускладнень і прогресування вентиляційних порушень у хворих на ХОЗЛ у поєднанні з АГ в перспективі планується побудова математичної регресійної моделі прогнозування.

Результати та їх обговорення

Апоптоз може індукуватися за допомогою різних стимулів і в різних умовах, але ішемія є переважаючим фактором для його виникнення, що включає посилену генерацію вільних радикалів, в тому числі NO-радикала; порушення мітохондріальної функції, збільшення концентрації вільних іонів кальцію в цитоплазмі пошкоджених клітин, активацію кальпаїна, активацію каспаз-спеціалізованих цистеїнових протеаз – безпосередніх ініціаторів апоптозу і, нарешті, фрагментацію ядерної ДНК. Активація каспаз блокується як *in vivo*, так і *in vitro* низькомолекулярними пептидами, які ковалентно зв'язуються з ними і інактивують їх, що призводить як до зменшення обсягу загиблих ішемічних клітин, так і до зменшення клінічних проявів захворювання [8].

Ініціатором активації каспаз є вивільнення цитохрому С з мітохондрій в цитозоль. Доказом схильності клітин до апоптозу є швидке збільшення рівня білка паркіна-4. Всі ці зміни не типові для клітин, що знаходяться в умовах некрозу. Інший механізм апоптозу включає секрецію лейкоцитами фактора некрозу пухлин і позаклітинні індуктори апоптозу – цитокини, що діють через їх власні рецептори. Денатурація білків також активує апоптоз через зменшення концентрації вільного білка теплового шоку. Отже, клітина йде в апоптоз, якщо щось трапляється з її ДНК, білками або ліпідами [9].

Отже, критичну роль в стимуляції апоптозу відіграє зниження ендогенних антиоксидантів, оскільки порушення балансу між АФК і антиоксидантами, співвідношення АТФ/АДФ індукує деполаризацію мітохондрій в результаті чого вивільняються проапоптозні білки, активуються каспази, безпосередні медіатори апоптозу.

Існує два основних шляхи ініціації апоптозу. Перший реалізується через систему зчеплених з мембраною білків сімейства туморнекротичних TNF-рецепторів, до яких відносяться Fas (CD 95), TNF-R1, DR-3, DR-4 і DR. «Рецептори загибелі» розташовані на поверхні клітини і служать сенсорами позаклітинних сигналів до апоптозу. Ці сигнали подаються рецептор-специфічними лігандами, такими як, наприклад, ліганд Fas-L. Цей білок належить до сімейства TNF-пов'язаних цитокинів і синтезується як трансмембранна молекула, але може існувати і в солюбілізованій формі, утвореній під впливом металопротеаз. Взаємодія Fas-L с родинним рецептором викликає тримеризацію останнього і утворення активних форм FADD, які в свою чергу викликають аутокаталітичну активацію протеолітичної системи «страсти» клітини – каскаду каспаз. Інший ліганд, здатний ініціювати апоптоз, TNF-а являє собою розчинний цитокін, який синтезується активованими Т-лімфоцитами і макрофагами у відповідь на запалення і інфекцію. Після його зв'язування з TNF-рецепторами відбувається практично те ж саме, що і при зв'язуванні Fas-R і Fas-L, з тією лише різницею, що мобілізується білок TRADD (TNF receptor-associated death domain) [10].

Ідентифіковано велику кількість генів, залучених в апоптоз. Деякі з них є онкогенами, наприклад, *myc* і *bcl-2*. Також до генів, які беруть участь у апоптозі, відноситься ген АРТ-1 (FAS), що кодує «рецептор смерті», ген полімерази-1-полі (АДФ рибози) (PARP1), ген індукваного при гіпоксії фактора 1А (HIF-1A), ген апоптоз-індукованого фактора (AIF), гени *p53*, *bcl-2*, *bax* і гени, що кодують структуру каспаз.

Асоціації між структурним поліморфізмом ДНК і функціональним станом генів вже були виявлені і в відношенні деяких генів апоптозу. Найбільш в цьому відношенні вивчений ген *p53*. У людини він розташований на короткому плечі 17 хромосоми. Ген складається з 11 екзонів, які

перериваються 10 інтронами. Відома велика кількість однонуклеотидних замін в гені *p53*, але найбільш докладно вивчалися поліморфізм в 1-му, 3-му, 4-му і 6-му нитроні [11].

Відомо, що продукт гена *p53* – білок, що містить аргінін в позиції 72, більшою мірою індукує апоптоз, ніж білок з проліном в тій же позиції. Також була виявлена асоціація поліморфізму R72P гена *p53* з розвитком гіпертрофії міокарда лівого шлуночка у хворих АГ і ІХС, при цьому носійство алелі 72P призводило до зниження ризику розвитку гіпертрофії лівого шлуночка у цих хворих. Носійство алелі С і генотипів С/С і С/А гена HIF-1A було асоційоване з підвищенням ризику розвитку інсульту в популяції.

Деякими авторами висловлюється припущення про участь полімерази-1-полі (АДФ рибози) (PARP-1) у виникненні пов'язаної з оксидативним стресом ендотеліальної дисфункції, яка, як відомо, відіграє важливу роль у виникненні і прогресуванні АГ. Відповідно відключення гена PARP-1 призводить до зменшення оксидативного стресу, а відповідно - ендотеліальної дисфункції та пошкодження ендотелію. Відомості про подібні взаємозв'язки, хоча і нечисленні, є і щодо таких генів апоптозу, як гени, що кодують структуру каспаз 8 і каспаз 9 [12].

Дослідження Chun-Hsiang Lin зі співавторами вказує на те, що непротеолітичні аероалергени *rDP2* знижують життєздатність бронхіальних епітеліальних клітин людини BEAS-2B за допомогою індукції апоптозу. Автори також припускають, що *rDP2* не тільки викликають імунну відповідь, а й безпосередньо викликають ушкодження епітелію дихальних шляхів. Результати показують, що високий рівень *rDP2* спричиняє підвищений рівень внутрішньоклітинних активних форм кисню, що може сприяти збільшенню співвідношення *Bax* / *Bcl-2* і вивільненню цитохрому С BEAS-2B клітинами. Ці результати надають докази того, що *rDP2* може вносити свій вклад в гіперреактивність дихальних шляхів за допомогою підвищення внутрішньоклітинного рівня активних форм кисню і, як наслідок, патогенна і проапоптотична сигналізація в епітеліальних клітинах. Клітинний апоптоз опосередковується тонким балансом про- і антиапоптотичних білків в клітинах. Зокрема, мітохондріальний шлях апоптозу регулюється ранньою транслокацією антиапоптотичних (*Bcl-2* і *Bcl-XL*) і проапоптотичних (*Bak* і *Bax*) членів сімейства *Bcl-2* білків в середину або назовні з мітохондрій [199], які модулюють вивільнення проапоптотичних компонентів, таких, як цитохром С, які активують апоптоз, ефективні каспази і ДНКазы, що призводить до фрагментації ДНК і розщеплення полі(АДФ-рибоза)-полімераз (PARP). Крім того, наявність розщепленої PARP (p85) повідомляється в якості важливого маркера на ранній стадії апоптозу в бронхіальному епітелії [13]. Отримані дослідниками результати показують, що *rDP2* зменшує експресію *Bcl-2*, але збільшує *Bax* і *Bak*

рівень в клітинах BEAS-2B, а також збільшує наявність p85 PARP, вказуючи, що gDP2 викликають внутрішній апоптоз бронхіальних епітеліальних клітин людини, провокуючи дисбаланс проапоптотичних і антиапоптотичних факторів.

Таким чином, активація клітин в період загострення і ремісії ХОЗЛ у поєднанні з гіпертонічною хворобою підвищує готовність клітин до апоптозу через Fas-опосередкований механізм. Можна припустити, що чутливість клітин до Fas-індукованого апоптозу визначається не тільки рівнем експресії Fas-антигену, але і його функціональним станом, балансом цитокінів та внутрішньоклітинних регуляторів апоптозу. Крім того, ймовірно апоптоз клітин при ХОЗЛ здійснюється також за допомогою інших рецепторів апоптозу (TNF) і рецепторнезалежним шляхом. Проте на сьогоднішній день у літературних джерелах практично відсутні дані про роль ініціаторної каспази 9 та ефекторної каспази 3 у апоптозі нейтрофілів у пацієнтів із поєднаним перебігом ХОЗЛ та гіпертонічної хвороби. Адже саме каспаза 3 специфічно активує ендонуклеазу CAD. У проліферуючих клітинах ця ендонуклеаза пов'язана з її інгібітором – ICAD (Inhibitor of Caspase Activated DNase). У апоптотичних клітинах активна каспаза 3 розрізає інгібітор ферменту, що вивільняє ендонуклеазу CAD. Активність ферменту призводить до деградації хромосомальної ДНК, викликаючи конденсацію хроматину. Активація ендонуклеаз - не єдина функція каспаз 3. Ферментативна активність каспаз призводить до реорганізації цитоскелету і перетворення клітини в апоптотичні тільки.

Фаза екзекуції є активною фазою апоптозу, що відбувається негайно після того, як в клітині включається програма самознищення. Вона триває близько години і характеризується яскравими морфологічними проявами апоптозу (тобто блебінгом мембрани, конденсацією хроматину і фрагментацією ДНК). Кульмінацією є руйнування клітини і упаковка її для фагоцитозу. Більшість досліджень фази екзекуції фокусувалися на з'ясуванні ядерних змін з ідентифікацією механізмів, відповідальних за ядерну екзекуцію – таких як зв'язок між виділенням цитохрому С, активацією каспаз 9/3 і фрагментацією ДНК. З'ясування детальної інформації тонких механізмів запуску та регуляції апоптозу нейтрофілів за участю каспаз 3 і 9 при коморбідній патології ХОЗЛ та ГБ на сучасному етапі є перспективним та актуальним дослідженням, котре допоможе провести відповідні коригуючі дії у схемах лікування даної групи пацієнтів для досягнення повноцінної тривалої ремісії захворювання.

При пригніченні мітохондріального дихання відбувається зниження заряду мітохондрій, що ініціює апоптоз, а відсутність глюкози призводить до некрозу. Відомо про прямий шлях активації відкриття гігантської пори оксидом азоту і виходу цитохрому С, що призводить до запуску каспазного каскаду. Під дією цитотоксичних де-

риватів NO відбувається експресія та вихід в цитозоль проапоптотичних білків, відкриття мітохондріальних пор за рахунок окислення або нітרוзування тіольних груп цистеїнзалежної ділянки білка внутрішньої мембрани мітохондрій (АТФ / АДФ-антипортер), який після цього стає проникним неспецифічним каналом-порою [14]. Ці процеси порушують головну функцію мітохондрій – утворення АТФ, і замість цього вони стають об'єктом непродуктивного спалювання субстратів окислення. Порушення кисневого режиму, трансмітерний аутокоідоз, порушення акумуляції Ca²⁺ мітохондріями, пошкодження мембрани мітохондрій АФК і NO активують відкриття пор і вивільнення апоптогенних білків з мітохондрій. Пероксинітрит нітрузує білки по залишках тирозину і визначає функціональні наслідки, пригнічуючи фосфорилування тирозину, порушує передачу сигналу в клітині. Пероксинітрит нітрузує цитохром С в мітохондріях з подальшою зміною його функцій підтримки перенесення електронів в дихальному ланцюзі і він більше не здатний відновлювати аскорбат. Вихід цитохрому С в цитоплазму дає можливість передбачити участь такого нітрузування і в сигнальних процесах, крім того, це викликає нітрузування гуаніну і розрив ланцюгів ДНК [15].

Висновки

Аналіз динаміки досліджуваних цистеїнових протеаз свідчить про статистично значущу елевачію даних маркерів апоптозу в умовах АГ та ХОЗЛ. Значення каспази-7 в когорті хворих на ХОЗЛ+АГ істотно перевищувало аналогічні для груп хворих із монопатологією у вигляді АГ або ХОЗЛ, і складало в середньому 0,41±0,09 нг / мл. Суттєва статистично значуща елевачія рівня каспази-9 у хворих на ХОЗЛ+АГ до 2,16±0,29 нг / мл порівняно з іншими групами також свідчить на користь більш значної індукції апоптотичних процесів при коморбідній патології, ніж при ізолюваній АГ або ХОЗЛ.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати потребують подальшого уточнення характеру взаємозв'язку зміни метаболізму цистеїнових протеаз і первинності патогенетичних процесів в механізмах формування ризику розвитку ускладнень і прогресування веніляційних порушень у хворих на ХОЗЛ у поєднанні з АГ.

References

1. Arutyunov GP. Serdechno-sosudystye zabolevaniya y khronicheskaya obstruktyvnaya bolezny legkykh krynynalnye partnery [Cardiovascular diseases and chronic obstructive pulmonary disease criminal partners]. Serdechnaya nedostatochnost. 2011; 3: 16-9. [Russian]
2. Kharchenko TA. Aktualnye problemy lecheniya bolnykh s khronicheskoy obstruktyvnoy boleznyu legkykh [Actual problems of treating patients with chronic obstructive pulmonary disease]. Novosty medytyny y farmatsyy. 2012; 9: 415. [Russian]
3. Miravittles M, Anzueto A. Insights into interventions in managing COPD patients: lessons from the TORCH and UPLIFT studies. Int. J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2009; 4: 185-201.
4. Khasanov NR, Khasanova DR, Oslopov VN. Membrannyye aspekty vegetatyvnogo reagyrovannya u bolnykh arterialnoy gypertenzey

- s različnymy sutočnymy profilyamy arteryalnogo davleniya [The membrane aspects of the autonomic response in patients with arterial hypertension with different diurnal profiles of blood pressure]. *Farmateka*. 2010; 12: 206. [Russian]
5. Belolapenko YA, Abdrashytova AT. Yzuchenye protsessov prezhdnevremennogo stareniya y markera apoptoza — belka p53 u rabotayushchykh na gazodobyvayushchem komplekse [Study of the processes of premature aging and apoptosis marker - p53 protein in the gas production complex]. *Materyaly II vserossyyskoy nauchnoy konferentsyy "Nauchnoe tvorchestvo XXI veka" s mezhdunarodnym uchastyem*. Opublykovano v zhurnala «V myre nauchnykh otkrytyy», Moskva, 2010; 4(10): 45-7. [Russian]
 6. Liu M, Dilger J. 1325-pos strychnine inhibition of human $\alpha 1$ glycine receptors. *Biophys J*. 2008; 94: 1325-6.
 7. Barnes PJ, Celli BR. Systemic manifestations and comorbidities of COPD. *Eur Respir J*. 2009; 33: 1165-85.
 8. Yskandarova LR, Myngazetdynova LN, Mutalova EG. Kletochno-tsytokynovaya reaktsiya apoptoza u zhenshchyn arteryalnoy gypertoney s metabolycheskymy narushenyamy [Cell-cytokine reaction of apoptosis in women with arterial hypertension and metabolic disorders]. *GOU VPO «BGMU» Obshchestvennaya organizatsiya «Medyky Bashkortostana»*. 2008: 123-6. [Russian]
 9. Ashino T, Yamamoto M, Numazawa S. NRF2/keap1 system regulates vascular smooth muscle cell apoptosis for vascular homeostasis: Role in neointimal formation after vascular injury. *Sci Rep*. 2016; 6: 26-9.
 10. Myngazetdynova LN, Smakaeva ER, Khasanova AR, Turysheva OE, Gallyamova VR. Kletochno-tsytokynovyy kompleks v apoptochnoy reaktsii u bolnykh ostrym koronarnym sindromom [Cell-cytokine complex in apoptotic reactivity in patients with acute coronary syndrome]. *Uspekhy sovremennogo estestvoznaniya*. 2009; 2: 48-50. [Russian]
 11. Sun Y, An N, Li J. miRNA-206 regulates human pulmonary microvascular endothelial cell apoptosis via targeting in chronic obstructive pulmonary disease. *J Cell Biochem*. 2018. doi: 10.1002/jcb.27910
 12. Ju J. Corrigendum: An Increased Proportion of Apoptosis in CD4+ T Lymphocytes Isolated from the Peripheral Blood in Patients with Stable Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Tuberc Respir Dis (Seoul)*. 2018; 81(4): 351. doi: 10.4046/trd.2017.0079.r
 13. Xiangjia Zhu, Kun Guo, Yi Lu. Selenium effectively inhibits 1,2-dihydroxynaphthalene-induced apoptosis in human lens epithelial cells through activation of PI3-K. Akt pathway. *Molecular Vision*. 2011; 17: 2019-27.
 14. Blagonravov ML, Azova MM, Frolov VA. Byokhymicheskoye issledovaniye apoptoza kletok myokarda pry ostroy peregruzke levogo zheludochka v eksperymente [Biochemical study of apoptosis of myocardial cells during acute overload of the left ventricle in the experiment]. *Voprosy byologicheskoy medytsynskoy y farmatsevticheskoy khymyy*. 2010; 8: 49-53. [Russian]
 15. Raymond CB, Wazny LD. Sodium thiosulfate, bisphosphonates, and cinacalcet for treatment of calciphylaxis. *Am J Health Syst Pharm*. 2008; 65(15): 1419-29.

Реферат

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АПОПТОТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ НА ФОНЕ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Тяглая О.С.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, хроническое обструктивное заболевание легких, апоптоз, каспаза-7, каспаза-9.

Известно, что и хроническое обструктивное заболевание легких, и артериальная гипертензия являются мультифакториальными заболеваниями, и развиваются вследствие сложного взаимодействия генетических факторов и факторов внешней среды. Целью данного исследования было изучение метаболизма каспазы-7 и каспазы-9 у пациентов на фоне хронического обструктивного заболевания легких в сочетании с артериальной гипертензией. Материалы и методы. Было обследовано 23 больных с диагнозом гипертензивная болезнь II стадии и хроническое обструктивное заболевание легких II стадии без клинически значимой сопутствующей патологии. Уровень каспазы-7 и каспазы-9 в плазме крови определяли с использованием соответствующих тест-систем ИФА (производитель – Bender Medsystems, Австрия) в Учебном медико-лабораторном центре ЗГМУ в соответствии с прилагаемой к набору инструкцией. Результаты исследования. Анализ динамики исследуемых цистеиновых протеаз свидетельствует о статистически значимой элевации данных маркеров апоптоза в условиях артериальной гипертензии и хронического обструктивного заболевания легких. Значение каспазы-7 в когорте больных хроническим обструктивным заболеванием легких + артериальной гипертензией существенно превышало аналогичные показатели для групп больных с монопатологией в виде артериальной гипертензии или хронического обструктивного заболевания легких, и составляло в среднем $0,41 \pm 0,09$ нг/мл. Существенная статистически значимая элевация уровня каспазы-9 у больных хроническим обструктивным заболеванием легких + артериальной гипертензией до $2,16 \pm 0,29$ нг/мл по сравнению с другими группами также свидетельствует в пользу более значительной индукции апоптотических процессов при коморбидной патологии, чем при изолированной артериальной гипертензии или хроническом обструктивном заболевании легких. Вывод. Полученные результаты требуют дальнейшего уточнения характера взаимосвязи изменения метаболизма цистеиновых протеаз и первичности патогенетических процессов в механизмах формирования риска развития осложнений и прогрессирования вентиляционных нарушений у больных хроническим обструктивным заболеванием легких в сочетании с АГ.

Summary

PECULIARITIES OF APOPTOTIC MARKER EXPRESSION IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE AND ARTERIAL HYPERTENSION

Tyaglaya O.S.

Key words: arterial hypertension, chronic obstructive pulmonary disease, apoptosis, caspase-7, caspase-9.

It is known that both chronic obstructive pulmonary disease and arterial hypertension are multifactorial diseases, and develop as a result of a complex interaction of genetic and environmental factors. The purpose of this work was to study the metabolism of caspase-7 and caspase-9 in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in combination with arterial hypertension (AH). Materials and methods. We examined 23 patients with a diagnosis of essential hypertension stage II and COPD stage II without a clinically significant concomitant pathology. The plasma level of caspase-7 and caspase-9 was determined using the appropriate ELISA test systems (manufacturer – Bender Medsystems, Austria) at the Medical and Laboratory Training Centre of Zaporizhzhia State Medical University in accordance with the instructions attached to the kit. The analysis of the dynamics of the studied cysteine proteases indicates a statistically significant

elevation of these apoptosis markers in the conditions of hypertension and COPD. The value of caspase-7 in the cohort of patients with COPD + AH significantly exceeded similar figures for the groups of patients with a single pathology presented by AH or COPD, and averaged 0.41 ± 0.09 ng / ml. A statistically significant elevation of the caspase-9 level in patients with COPD + AH up to 2.16 ± 0.29 ng / ml compared with other groups also indicates a more significant induction of apoptotic processes in comorbid pathology than in isolated AH or COPD. Conclusion. The obtained results require further clarification of the nature of the relationship between changes in the metabolism of cysteine proteases and the primacy of pathogenetic processes in the mechanisms of risk formation for complications and progression of ventilation disorders in patients with COPD and comorbid essential hypertension.

DOI:10.31718/2077-1096.18.4.71

УДК 616.379-008.64-056.257:616.12-008.331.1:615.851.5

Фуштей І.М., Солов'юк О.А., Солов'юк О.О.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ЗМІН ЯКОСТІ ЖИТТЯ ТА АРТЕРІАЛЬНОЇ ЖОРСТКОСТІ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ТИПУ 2 В ПОЄДНАННІ З ОЖИРІННЯМ

ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України»

Запорізький державний медичний університет

Мета дослідження - вивчення загальних особливостей якості життя, впливу надлишкової маси тіла на якість життя, характеру харчової поведінки у хворих на цукровий діабет типу 2 в поєднанні з надлишковою масою тіла та ожирінням, а також встановлення кореляційних зв'язків з показниками функціонального стану артеріальних судин. Було обстежено 64 особи (34 жінки та 30 чоловіків) хворих на цукровий діабет з надлишковою масою тіла та ожирінням (середнім віком $56,3 \pm 10,23$ років), що склали 1 групу, 34 особи (19 жінки та 15 чоловіків), середній вік склав $55,6 \pm 11,92$ років, що увійшли до 2 групи, а також 28 практично здорових осіб контрольної групи. Для оцінки якості життя використовували опитувальники SF-36v2, вплив надлишкової маси тіла на якість життя аналізували за даними опитувальника IWQOL-Lite, характер харчової поведінки визначали за допомогою опитувальника COEQ4 7days FPRS. Функціональний стан артеріальних судин визначали за допомогою оцінки швидкості розповсюдження пульсової хвилі з використанням автоматизованого реографічного комплексу ReoCom («ХАІ-медика» (Україна). У хворих на цукровий діабет з надлишковою масою тіла за даними опитувальника SF-36v2 відзначені зміни з боку якості життя, які характеризувалися в першу чергу зниженням рівня фізичної активності, а також соціального та емоційного статусу, зазначені зміни різнилися не тільки з практично здоровими особами, але й хворими на цукровий діабет з нормальною масою тіла. Характер харчової поведінки у хворих на цукровий діабет з надлишковою масою тіла відрізнявся підвищеним станом голоду на тлі погіршеного емоційного стану та підвищеним бажанням їсти певні види продуктів, які можуть сприяти надлишковій масі тіла. Структурні зміни артеріальних судин, які характеризують артеріальну жорсткість, були взаємозв'язаними з показниками емоційного стану та фізичної активності у хворих на цукровий діабет з надлишковою масою тіла.

Ключові слова: якість життя, артеріальна жорсткість, цукровий діабет, ожиріння.

Робота є фрагментом НДР кафедри терапії, клінічної фармакології та ендокринології ДЗ «ЗМАПО МОЗ України» «Перебіг артеріальної гіпертензії в сполученні з загальними захворюваннями легень та суалобів як прояви коморбідності: традиційні та додаткові фактори ризику кардіоваскулярних подій, механізми розвитку, діагностика і лікування», ВН.Р. 03.23.03-15, № держ. реєстрації 0115U000658.

Вступ

Останні десятиріччя чітко визначена динаміка прогресивного зростання частоти розвитку соціальних хвороб, в першу чергу цукрового діабету типу 2 (ЦД), артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, що суттєво підвищує рівень смертності від кардіоваскулярної патології [3,8,9]. В численних дослідженнях доведено роль метаболічних порушень (насамперед, вуглеводного та ліпідного обміну) в формуванні інсулінорезистентності та ЦД, що є характерним для більшості хворих з надлишковою масою тіла та ожирінням [2,4,5,10]. У хворих середнього віку при наявності ожиріння в 30% випадків визначаються клінічні ознаки ЦД [4].

Проблема якості життя (ЯЖ) у хворих з над-

лишковою масою тіла (НМТ) є надзвичайно актуальною, та соціально значущою, що насамперед пов'язано з обмеженням рухової щоденної активності порівняно з особами з нормальною масою тіла, а також необхідністю постійного корегування харчової поведінки для дотримання лікувальних програм щодо впливу на динаміку маси тіла. Крім цього, хворі з НМТ мають низьку самооцінку, різноманітні депресивні розлади та психологічні проблеми як вдома, так і на робочих місцях [1,7,11].

У вивченні патогенетичних особливостей ангіопатій при ЦД одне з провідних місць належить змінам структурно-функціональних властивостей судинної стінки. Як було показано в роботах низки дослідників, артеріальна жорсткість є незалежним фактором кардіоваскулярного ризику,