

Развитие вторичной митохондриальной дисфункции мононуклеарных лейкоцитов крови у больных хронической обструктивной болезнью легких и хроническим бронхитом

Эдуард Сергеевич Бельских*, Олег Михайлович Урясьев,
Валентина Ивановна Звягина, Светлана Васильевна Фалетрова

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань, Россия

Реферат

Цель. Изучить показатели энергетического обмена и окислительного стресса в мононуклеарных лейкоцитах периферической крови и оценить возможность развития митохондриальной дисфункции при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и хроническом бронхите.

Материалы исследования. В исследование было включено 50 пациентов в возрасте от 40 до 75 лет с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) или хроническим бронхитом. Первая группа включала 13 пациентов с хроническим бронхитом. В соответствии со спирометрической классификацией GOLD вторая и третья группы включали пациентов с ХОБЛ средней степени тяжести (ХОБЛ 2) (n=17) и тяжелой ХОБЛ (ХОБЛ 3) (n=20) соответственно. В выделенных мононуклеарных лейкоцитах определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), концентрацию сукцината, проводили комплексную оценку окислительной модификации белков.

Результаты. Было установлено, что у больных хроническим бронхитом по сравнению с больными с ХОБЛ 2 и ХОБЛ 3 в мононуклеарных лейкоцитах наблюдалась большая активность СОД в 3,38 раз (p=0,0025) и 3,15 раз (p=0,0058), активность СДГ в 4,55 (p=0,0281) и 2,5 раз (p=0,0263), концентрация сукцината в 2,05 (p=0,0133) и 1,89 (p=0,005) раз соответственно. Уровень спонтанно окислено модифицированных белков в группе больных с хроническим бронхитом снижался в 2,45 (p=0,0176) и 2,94 (p=0,0168) раз по сравнению с больными групп 2 и 3 соответственно. Отмечалось уменьшение резервно-адаптационного потенциала окислительной модификации белков при ХОБЛ в виде увеличения соотношения спонтанных окисленно-модифицированных белков к металл-индуцированным в 1,58 раз (p=0,0301) между группами 1 и 2, и в 1,44 раз между группами 2 и 3 (p=0,0446).

Выводы. В мононуклеарных лейкоцитах больных ХОБЛ наблюдается развитие вторичной митохондриальной дисфункции, сопровождающейся выраженным окислительным повреждением лимфоцитов и моноцитов. Больных с тяжелой ХОБЛ по сравнению с больными с ХОБЛ средней тяжести отличает меньший резервно-адаптационный потенциал окислительной модификации белков мононуклеарных лейкоцитов, что, вероятно, отражает более тяжелое течение заболевания.

Ключевые слова: ХОБЛ, митохондриальная дисфункция, окислительная модификация белков, мононуклеарные лейкоциты.

Для цитирования: Бельских Э.С., Урясьев О.М., Звягина В.И., Фалетрова С.В. Развитие вторичной митохондриальной дисфункции мононуклеарных лейкоцитов крови у больных хронической обструктивной болезнью легких и хроническим бронхитом. *Казанский мед. ж.* 2018; 99 (5): 741–747. DOI: 10.17816/KMJ2018-741.

Development of secondary mitochondrial dysfunction of mononuclear blood leukocytes in patients with chronic obstructive pulmonary disease and chronic bronchitis

E.S. Bel'skikh, O.M. Uryas'ev, V.I. Zvyagina, S.V. Faletrova
Ryazan State Medical University n.a. academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russia

Abstract

Aim. To study the indicators of energy metabolism and oxidative stress in mononuclear leukocytes of peripheral blood and to assess the possibility of mitochondrial dysfunction development in chronic obstructive pulmonary disease and chronic bronchitis.

Methods. The study included 50 patients aged 40 to 75 years with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) or chronic bronchitis. The first group included 13 patients with chronic bronchitis. In accordance with the GOLD spirometric classification, the second and third groups included patients with COPD of moderate severity (COPD 2) (n=17) and severe COPD (COPD 3) (n=20) respectively. In the isolated mononuclear leukocytes, the activity of superoxide dismutase (SOD), succinate dehydrogenase (SDH) and concentration of succinate were determined, a complex evaluation of oxidative modification of proteins was performed.

Results. Patients with chronic bronchitis compared to patients with COPD 2 and COPD 3 were found to have in mononuclear leukocytes higher activity of SOD by 3.38 times ($p=0.0025$) and 3.15 times ($p=0.0058$), higher activity of SDH by 4.55 times ($p=0.0281$) and 2.5 times ($p=0.0263$) and higher succinate concentration by 2.05 ($p=0.0133$) and 1.89 ($p=0.005$) times respectively. The level of spontaneously oxidized modified proteins in the group of patients with chronic bronchitis decreased by 2.45 ($p=0.0176$) and 2.94 ($p=0.0168$) times compared to the patients of groups 2 and 3, respectively. There was a decrease in the reserve-adaptive potential of oxidative modification of proteins in COPD in the form of an increase of the ratio of spontaneously oxidized-modified proteins to metal-induced oxidized proteins by 1.58 times ($p=0.0301$) between groups 1 and 2, and by 1.44 times between groups 2 and 3 ($p=0.0446$).

Conclusion. In mononuclear leukocytes of COPD patients, secondary mitochondrial dysfunction is observed accompanied by significant oxidative damage of lymphocytes and monocytes. Patients with severe COPD compared to patients with COPD of moderate severity have less reserve-adaptive potential for the oxidative modification of mononuclear leukocyte proteins, which probably reflects a more severe course of the disease.

Keywords: COPD, mitochondrial dysfunction, oxidative modification of proteins, mononuclear leukocytes.

For citation: Bel'skikh E.S., Uryas'ev O.M., Zvyagina V.I., Faletrova S.V. Development of secondary mitochondrial dysfunction of mononuclear blood leukocytes in patients with chronic obstructive pulmonary disease and chronic bronchitis. *Kazan medical journal*. 2018; 99 (5): 741–747. DOI: 10.17816/KMJ2018-741.

ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с современными представлениями хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является лидирующей причиной заболеваемости и смертности во всем мире, представляя собой значительное и постоянно растущее социально-экономическое бремя [1]. Установлено, что наиболее распространенным и изученным фактором риска ХОБЛ и хронического бронхита является курение, способное, в свою очередь, индуцировать развитие вторичной митохондриальной дисфункции [2].

Под митохондриальной дисфункцией понимается нарушение любого из процессов, протекающих в митохондриях, например, таких как: окислительное фосфорилирование, участие в апоптозе, регуляция цитоплазматического и митохондриального уровня кальция, синтез и катаболизм некоторых метаболитов [3]. Митохондриальная дисфункция является важным патогенетическим звеном, обуславливающим развитие системных нарушений при ХОБЛ [2]. Так установлено, что скелетные мышцы от пациентов с ХОБЛ характеризуются уменьшенным количеством митохондрий, сниженным биогенезом митохондрий, уменьшенной активностью комплексов дыхательной цепи, повышенной продукцией активных форм кислорода, что создает предпосылки для нарушения функции скелетных мышц у больных

ХОБЛ при обострениях и в значительной мере обуславливают уменьшение толерантности к физической нагрузке [4, 5]. Наряду с системными эффектами важным аспектом в патогенезе ХОБЛ является персистирующее воспаление, которое сохраняется даже после прекращения курения [5, 6].

Определение маркеров митохондриальной дисфункции, тесно связанной с развитием окислительного стресса (ОС) и формированием патологической воспалительной реакции, у больных ХОБЛ наряду с клиническими показателями может стать дополнительным критерием, который позволит разделять больных на подгруппы с целью оптимизации подбора терапии. Учитывая, что для функционирования митохондрий большое значение имеют процессы адаптации к гипоксии, срыв которых связан с образованием избытка активных форм кислорода (АФК), представляется целесообразным исследование активности ферментов дыхательной цепи и их субстратов у больных ХОБЛ и хроническим бронхитом [5, 7, 8]. Избыточное образование АФК способствует развитию ОС с повреждением всех клеточных структур, в том числе белков. В связи с этим исследование карбонильных производных белков позволит провести как количественную оценку выраженности ОС, так и, возможно, охарактеризовать качественные аспекты окислительного повреждения при ХОБЛ и хроническом

бронхите [9, 10]. По данным ряда исследователей, периферические лимфоциты, являясь мигрирующими клетками организма, способны отражать изменения, протекающие в других тканях, и удобны для исследования в клинической практике [11].

Целью данного пилотного исследования является изучение показателей энергетического обмена и окислительного стресса моноядерных лейкоцитов и оценка возможности развития митохондриальной дисфункции в лимфоцитах и моноцитах при ХОБЛ и хроническом бронхите.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведённое исследование одобрено ЛЭК РязГМУ (протокол № 2 от 7.10.2016 г.) и соответствует требованиям Надлежащей Клинической Практики (GCP) и Хельсинской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования».

В исследование было включено 50 пациентов — мужчин курильщиков в возрасте от 40 до 75 лет (медиана — 67 [61; 70] лет), проходивших лечение в ГБУ РО «ОКБ» (г. Рязань) по поводу обострения ХОБЛ или хронического бронхита. Критериями включения в группу больных ХОБЛ служили подписанное информированное согласие, возраст от 40 до 75 лет, исходный постбронходилатационный модифицированный индекс Тиффно $\leq 0,7$. Для группы больных хроническим бронхитом: подписанное информированное согласие, возраст от 40 до 75 лет, наличие хронического бронхита в анамнезе более 2-х лет. Критериями исключения для всех групп служили хирургические вмешательства на легких в анамнезе, злоупотребление алкоголем и наркотиками, пациенты с легочными заболеваниями, отличными от пациентов ХОБЛ и больных хроническим бронхитом, или имеющие значимые воспалительные заболевания, другие хронические заболевания внутренних органов в фазе декомпенсации, моноцитоз ($>11\%$) в результатах общего анализа крови. Больные были разделены на три группы. Первая группа включила 13 пациентов с хроническим бронхитом, средний возраст которых составил 68[61;71] лет. В соответствии со спирометрической классификацией GOLD вторая группа включала пациентов с ХОБЛ 2 (по 50 % \leq объем форсированного выдоха за 1 секунду $<80\%$) ($n=17$), средний возраст больных в этой группе составил 67[61;72] лет. Третья группа включала пациентов с ХОБЛ 3

(30 % \leq объем форсированного выдоха за 1 секунду $<50\%$) ($n=20$), средний возраст в группе — 68[62,5;72] лет. Все исследуемые группы были сопоставимы по полу и возрасту ($p_{1,2}=0,79$; $p_{1,3}=0,967$, $p_{2,3}=0,59$).

Всем пациентам проводилось общеклиническое обследование, определение функции внешнего дыхания с помощью спирометра MicroLab (Micro Medical, Великобритания). Забор крови осуществлялся утром натощак на второй день госпитализации путем венепункции с помощью вакуумных систем для забора крови из кубитального доступа с помощью пробирок, содержащих гепарин натрия, разделительный гель и раствор фикола для создания градиента плотности (BD Vacutainer CPT, США).

Выделение лимфоцитов из крови проводилось путем центрифугирования забранной крови в пробирках BD CPT при относительном центробежном ускорении 1 600 в течение 16 минут в соответствии с инструкцией производителя. После центрифугирования забирали плазму с лимфоцитами и моноцитами из содержимого пробирки над разделительным гелем. Мононуклеарные лейкоциты отделяли от плазмы путем центрифугирования при 3 000 оборотах/минуту в течение 10 минут. Полученные клетки отмывали 0,9 % NaCl с последующим центрифугированием при 3 000 оборотах/минуту в течение 5 минут трехкратно.

Выделенные мононуклеарные лейкоциты ресуспендировали в 1 мл дистиллированной воды, получая суспензию. В 20 мкл суспензии подсчитывали количество клеток, окрашенных раствором метиленового синего в камере Горяева, с последующим их перерасчетом на объем суспензии. После завершения подсчета клеток к 1 мл суспензии добавляли детергент (10 мкл Triton X-100) и замораживали её. После разморозки суспензию использовали для определения показателей окислительного стресса, концентрации янтарной кислоты и активности ферментов с последующим пересчетом показателей на 10^6 клеток/мл суспензии.

Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли фотометрически по торможению реакции аутоокисления кверцетина [12]. Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) определяли фотометрически по реакции восстановления гексацианоферрата (III) калия [13]. Концентрацию сукцината определяли с помощью набора Succinate Colorimetric Assay Kit (Sigma-Aldrich, США). Окислительную модификацию белков определяли методом, основанным на реакции взаимодействия карбонильных групп и иминогрупп окисленных аминокислотных остатков

Таблица 1. Биохимические показатели мононуклеарных лейкоцитов крови исследуемых групп больных

Исследуемый показатель	Хронический бронхит (группа 1) (n=13)	ХОБЛ 2 (группа 2) (n=17)	ХОБЛ 3 (группа 3) (n=20)
Активность СОД, у.е./10 ⁶ клеток в 1 мл суспензии	65,84[42,93;67,29] ($p_{1-2}=0,0025$ $p_{1-3}=0,0058$)	19,48[16,48;25,49] ↓ ₁₋₂ в 3,38 раз	20,85[15,54;26,96] ↓ ₁₋₃ в 3,15 раз
Активность СДГ, нмоль сукцината/мин* 10 ⁶ клеток в 1 мл суспензии	76,83[66,67;162,75] ($p_{1-2}=0,0281$ $p_{1-3}=0,0263$)	16,88[10,30;40,54] ↓ ₁₋₂ в 4,55 раз	30,67[14,20;43,20] ↓ ₁₋₃ в 2,5 раз
Концентрация сукцината, нмоль/10 ⁶ клеток в 1 мл суспензии	560[464;763] ($p_{1-2}=0,0133$ $p_{1-3}=0,005$)	273[241;446] ↓ ₁₋₂ в 2,05 раз	296[381;361] ↓ ₁₋₃ в 1,89 раз

Результаты представлены в форме: медиана [1-ый квартиль; 3-ий квартиль]; СОД – супероксиддисмутаза, СДГ – сукцинатдегидрогеназа; n — количество больных в группе исследуемых.

с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, обладающих специфическим спектром поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях спектра. Общее количество продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) определяли по суммарной площади под кривой спектра поглощения. Затем рассчитывали доли ранних и поздних маркеров окислительной деструкции белков — альдегиддинитрофенилгидразонов (АДНФГ) и кетондинитрофенилгидразонов (КДНФГ) нейтрального и основного характера. АДНФГ нейтрального характера имеют максимумы поглощения при 230, 254, 270, 280, 356 нм, а основного — при 428 и 430 нм. Максимумы абсорбции света для КДНФГ нейтрального характера наблюдаются при 363 и 370 нм, а для основных — при 434, 520, 535 нм. АДНФГ являются маркерами фрагментации белков, а КДНФГ — их агрегации. Нейтральный или основной характер карбонильных производных характеризует степень повреждения нейтральных и основных аминокислот. Дополнительно рассчитывался резервно-адаптационный потенциал белков как доля в % суммарной площади под спектром абсорбции света спонтанной ОМБ к площади ОМБ, индуцированной с помощью реакции Фентона (последняя принималась за 100 %). Чем ниже доля продуктов спонтанного окисления, тем выше резервно-адаптационный потенциал [9].

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программ Microsoft Office Excel 2016 и StatPlus 6.0. Соответствие выборок нормальному распределению проверяли посредством критерия Шапиро — Уилка. Так как распределение в выборках носило характер отличный от нормального, применялся критерий Манна — Уитни для попарного сравнения исследуемых групп. Статистически значимыми

считали отличия при вероятности нулевой гипотезы об отсутствии различий $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из результатов, представленных в табл. 1, следовало, что для больных с ХОБЛ 2 (↓₁₋₂ в 3,38 раз, $p_{1-2}=0,0025$) и ХОБЛ 3 (↓₁₋₃ в 3,15 раз, $p_{1-3}=0,0058$) был характерен более низкий уровень активности СОД по сравнению с больными хроническим бронхитом. Наряду с этим, оценка активности СОД в мононуклеарных лейкоцитах периферической крови при ХОБЛ средней тяжести (группа 2) и тяжелой ХОБЛ (группа 3) не выявила статистически значимых отличий ($p=1,0$).

Более низкий показатель активности СОД мононуклеарных лейкоцитов позволил сделать предположение о, вероятно, более выраженном повреждении лимфоцитов и моноцитов в условиях окислительного стресса, являющегося значимой частью патогенеза ХОБЛ [1]. Это предположение нашло подтверждение в увеличении общего уровня спонтанно окисленных белков моноядерных лейкоцитов периферической крови у больных с ХОБЛ 2 (↑₁₋₂ в 2,45 раз, $p_{1-2}=0,0176$) и ХОБЛ 3 (↑₁₋₃ в 2,94 раз, $p_{1-3}=0,0168$) по сравнению с показателем больных с хроническим бронхитом (табл. 2). При этом прирост площади под кривой поглощения (S) АДНФГ (↑₁₋₂ в 2,55 раз, $p_{1-2}=0,0034$; ↑₁₋₃ в 3,23 раз, $p_{1-3}=0,0048$) и КДНФГ (↑₁₋₂ в 2,49 раз, $p_{1-2}=0,0034$; ↑₁₋₃ в 2,92 раз, $p_{1-3}=0,0126$) в ультрафиолетовой части спектра у больных группы 2 и группы 3 указывал на преимущественное повреждение аминокислотных остатков нейтрального характера по сравнению с показателями группы 1. Оценка соотношения ранних (АДНФГ) и поздних (КДНФГ) маркеров окислительного повреждения в мононуклеарных лейкоцитах у больных

Таблица 2. Содержание спонтанно-окисленных производных белков в мононуклеарных лейкоцитах периферической крови исследуемых групп больных

	S АДНФГ uv	S КДНФГ uv	САДНФГ vs	S КДНФГ vs	S ОМБ
Хронический бронхит (группа 1), у.е./10 ⁶ клеток в 1 мл суспензии (n=13)	26,22 [24,28;26,89] (p ₁₋₂ =0,0034 p ₁₋₃ =0,0048)	10,30 [8,71;11,47] (p ₁₋₂ =0,0034 p ₁₋₃ =0,0126)	10,58 [5,61;20,3]	2,69 [2,13;7,10]	50,85 [44,50;61,63] (p ₁₋₂ =0,0176 p ₁₋₃ =0,0168)
ХОБЛ 2 (группа 2), у.е./10 ⁶ клеток в 1 мл суспензии (n=17)	66,90 [38,26;122,58] ↑ ₁₋₂ в 2,55 раз	25,70 [15,16;36,77] ↑ ₁₋₂ в 2,49 раз	26,91 [16,08;40,24]	4,56 [3,35;7,22]	124,65 [72,85;206,25] ↑ ₁₋₂ в 2,45 раз
ХОБЛ 3 (группа 3), у.е./10 ⁶ клеток в 1 мл суспензии (n=20)	84,59 [34,38;186,94] ↑ ₁₋₃ в 3,23 раз	30,07 [15,98;62,97] ↑ ₁₋₃ в 2,92 раз	28,51 [13,43;47,59]	5,53 [2,04;9,59]	149,55 [65,80;297,75] ↑ ₁₋₃ в 2,94 раз

Результаты представлены в форме: медиана [1-й квартиль; 3-й квартиль]; АДНФГ — альдегиддинитрофенилгидразоны, КДНФГ — кетондинитрофенилгидразоны, S — значение площади под кривой, uv — в ультрафиолетовой области спектра, vs — в видимой области спектра; n — количество больных в группе исследуемых.

Таблица 3. Отношение значений динитрофенилгидразонов мононуклеарных лейкоцитов, полученных при спонтанном окислении, к значениям, полученным при индуцированном окислении белка

	Хронический бронхит (группа 1) (n=13)	ХОБЛ 2 (группа 2) (n=17)	ХОБЛ 3 (группа 3) (n=20)
АДФНГ uv, %	31,73[26,59;31,77] p ₁₋₂ =0,017 p ₁₋₃ =0,0015	49,13[28,96;79,72] ↑ ₁₋₂ в 1,54 раз	69,05[68,70;93,46] ↑ ₁₋₃ в 2,17 раз
АДФНГ vs, %	34,33[31,86;53,31]	60,93[46,11;90,55]	72,78[72,13;93,75]
КДФНГ uv, %	36,83[25,61;40,98] p ₁₋₂ =0,017 p ₁₋₃ =0,0067	50,56[30,11;74,00] ↑ ₁₋₂ в 1,37 раз	82,89[71,08;98,97] ↑ ₁₋₃ в 2,25 раз
КДФНГ vs, %	51,57[42,50;60,64]	57,51[42,69;77,31]	76,66[67,97;97,95]
Общая ОМБ, %	33,67[32,64;34,57] p ₁₋₂ =0,0301 p ₁₋₃ =0,0016	53,34[32,36;82,80] p ₂₋₃ =0,0446 ↑ ₁₋₂ в 1,58 раз	76,91[73,80;99,10] ↑ ₁₋₃ в 2,28 раз ↑ ₂₋₃ в 1,44 раз
Нейтральные, %	33,11[26,28;34,20] p ₁₋₂ =0,017 p ₁₋₃ =0,0015	49,52[29,28;79,63] ↑ ₁₋₂ в 1,49 раз	71,56[69,58;98,45] ↑ ₁₋₃ в 2,16 раз
Основные, %	35,48[34,81;60,71]	60,34[45,48;88,49]	75,36[73,39;95,68]

Результаты представлены в форме: медиана [1-й квартиль; 3-й квартиль]; АДНФГ — альдегиддинитрофенилгидразоны, КДФНГ — кетондинитрофенилгидразоны, uv — в ультрафиолетовой области спектра, vs — в видимой области спектра.

с ХОБЛ (%), ХОБЛ 2: АДНФГ 74,60[74,46;75,31], КДФНГ 25,40[24,69;25,54], ХОБЛ3: АДНФГ 74,25 [72,84;75,63], КДФНГ 25,75[24,37;27,16]) и с хроническим бронхитом (%), АДНФГ 72,93[71,11;73,28], КДФНГ 27,07[26,72;28,89]) выявила незначительное увеличение доли ранних маркеров окислительной деструкции белков.

Увеличение соотношения продуктов спонтанного окисления к индуцируемому с помощью реакции Фентона демонстрировало более низкий резервно-адаптационный потенциал мононуклеарных лейкоцитов крови у больных

2-й и 3-й групп в сравнении с больными хроническим бронхитом, что, возможно, обуславливало нарушение способности мононуклеарных лейкоцитов поддерживать функциональную активность в условиях окислительного стресса при обострении заболевания (табл. 3).

При сравнении больных 2-й и 3-й групп показатели спонтанной окислительной модификации белков статистически значимо не отличались (+19,9%, p=0,96). При оценке соотношения спонтанной и металл-индуцируемой окислительной модификации белков

отмечалось увеличение соотношения у больных с ХОБЛ 3 (+44,18%, $p=0,0446$), что указывало на снижение резервно-адаптационного потенциала окислительной модификации белков в мононуклеарных лейкоцитах больных 3-й группы. Возможно, это отражало большую интенсивность окислительного стресса, связанного с развитием обострения заболевания.

Таким образом, мононуклеарные лейкоциты больных с ХОБЛ по сравнению с больными с хроническим бронхитом при обострении характеризовались большей выраженностью окислительного повреждения и снижением антиоксидантной защиты, что, вероятно, создавало условия для нарушения их функциональной активности.

При изучении показателей энергообмена мононуклеарных лейкоцитов у больных с ХОБЛ по сравнению с больными с хроническим бронхитом была выявлена более низкая активность СДГ [$\downarrow_{1,2}$ в 4,55 раз, $p_{1,2}=0,0281$; $\downarrow_{1,3}$ в 2,55 раз, $p_{1,3}=0,0263$] и меньшая концентрация сукцината [$\downarrow_{1,2}$ в 2,05 раз, $p_{1,2}=0,0133$; $\downarrow_{1,3}$ в 1,89 раз, $p_{1,3}=0,005$]. В гипоксических условиях активация функционального комплекса II с соответствующим повышением активности СДГ позволяет митохондриям компенсаторно сохранить поступление восстановительных эквивалентов в цепь переноса электронов с сохранением энергопродуцирующей функции. В то же время принято считать, что при гипоксии сукцинат аккумулируется в клетках, обеспечивая реализацию адаптивных процессов, связанных с переключением путей окисления митохондриальных субстратов [8]. Выявленные отличия активности СДГ и концентрации сукцината, являющегося его субстратом, указывают, вероятно, на ингибирование процессов цикла Кребса по механизму отрицательной обратной связи в связи с накоплением избытка восстановленных коферментов и нарушение адаптивных процессов в митохондриях мононуклеарных лейкоцитов. Такое состояние в лимфоцитах и моноцитах у больных ХОБЛ при обострении, возможно, было связано с развитием острой гипоксии, когда на фоне быстрого снижения концентрации кислорода крови уменьшалось его содержание в митохондриях, что сопровождалось нарушением процесса переноса электронов с восстановленных коферментов на комплексы дыхательной цепи с образованием избытка активных форм кислорода.

Выявленные изменения показателей энергетического обмена в совокупности с исследованными маркерами окислительного стресса,

отражающими окислительное повреждение белков лимфоцитов и моноцитов, обнаруживали декомпенсацию адаптивных процессов митохондрий, что косвенно подтверждало развитие митохондриальной дисфункции лимфоцитов и моноцитов у больных ХОБЛ по сравнению с больными хроническим бронхитом.

ВЫВОДЫ

У больных с ХОБЛ наблюдается нарушение процессов энергетического обмена митохондрий и развитие вторичной митохондриальной дисфункции в мононуклеарных лейкоцитах периферической крови.

В нашем исследовании выявлено, что в мононуклеарных лейкоцитах больных с ХОБЛ по сравнению с больными хроническим бронхитом регистрируется тенденция к снижению уровня антиоксидантной защиты и большей выраженности окислительного повреждения белков, что создает предпосылки для нарушения их функциональной активности.

Больные с тяжелой формой заболевания (ХОБЛ 3) характеризуются более выраженным повреждением мононуклеарных лейкоцитов, чем больные со средней степенью тяжести заболевания (ХОБЛ 2), что отражается в статистически значимом уменьшении резервно-адаптационного потенциала окислительной модификации белков.

Исследование выполнено в рамках реализации внутривузовского гранта ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России № 2/17 «Исследование митохондриальной дисфункции лимфоцитов крови у больных хронической обструктивной болезнью легких как возможного предиктора тяжести заболевания».

Авторы выражают благодарность коллективу пульмонологического отделения ГБУ РО ОКБ г. Рязань за помощь в проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. GOLD 2018 Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD. Available at: http://goldcopd.org/wp-content/uploads/2017/11/GOLD-2018-v6.0-FINAL-revised-20-Nov_WMS.pdf
2. Agrawal A., Mabalirajan U. Rejuvenating cellular respiration for optimizing respiratory function: targeting mitochondria. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2016; 310 (2): 103–113. DOI: 10.1152/ajplung.00320.2015.
3. Brand M.D., Nicholls D.G. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *Biochem. J.* 2011; 437 (3): 297–312. DOI: 10.1042/BJ4370575u.

4. Gayan-Ramirez G., Decramer M. Mechanisms of striated muscle dysfunction during acute exacerbations of COPD. *J. Appl. Physiol.* 2013; 114 (9): 1291–1299. DOI: 10.1152/jappphysiol.00847.2012.
5. Lerner C.A., Sundar I.K., Rahman I. Mitochondrial redox system, dynamics, and dysfunction in lung inflammation and COPD. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2016; 81: 294–306. DOI: 10.1016/j.biocel.2016.07.026.
6. Hoffmann R.F., Zarrintan S., Brandenburg S.M. et al. Prolonged cigarette smoke exposure alters mitochondrial structure and function in airway epithelial cells. *Respir. Res.* 2013; 14 (1): 97. DOI: 10.1186/1465-9921-14-97.
7. Zinellu E., Zinellu A., Fois A.G. et al. Circulating biomarkers of oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review. *Respir. Res.* 2016; 17 (1): 150. DOI: 10.1186/s12931-016-0471-z.
8. Lukyanova L.D., Kirova Y.I. Mitochondria-controlled signaling mechanisms of brain protection in hypoxia. *Front. Neurosci.* 2015; 9: 320. DOI: 10.3389/fnins.2015.00320.
9. Фомина М.А., Абаленихина Ю.В. Окислительная модификация белков тканей при изменении синтеза оксида азота. М.: Изд-во ГЭОТАР-Медиа. 2018; 192 с. [Fomina M.A., Abalenikhina Yu.V. *Okislitel'naya modifikatsiya belkov tkaney pri izmenenii sinteza oksida azota.* (Oxidative modification of tissue proteins by changing the synthesis of nitric oxide.) Moscow: GEOTAR-Media. 2018; 192 p. (In Russ.)]
10. Фомина М.А., Абаленихина Ю.В. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации. ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России. Рязань: РИО РязГМУ. 2014; 60 с. [Fomina M.A., Abalenikhina Yu.V. *Sposob kompleksnoy otsenki sodержaniya produktov oksislitel'noy modifikatsii belkov v tkanyakh i biologicheskikh zhidkostyakh: metodicheskie rekomendatsii.* (A method for the complex estimation of the content of products of oxidative modification of proteins in tissues and biological fluids: methodological recommendations.) Ryazan: RIO RyazGMU. 2014; 60 p. (In Russ.)]
11. Ли Л.А., Лебедько О.А., Козлов В.К. Оценка дисфункции митохондрий при внебольничной пневмонии у детей. *Дальневосточный медицинский журнал.* 2015; 2: 30–36. [Li L.A., Lebed'ko O.A., Kozlov V.K. Assessment of mitochondrial dysfunction in children with community-acquired pneumonia. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal.* 2015; 2: 30–36. (In Russ.)]
12. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопросы медицинской химии.* 1990; 2: 88–91. [Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Kovaleva Zh.V. A simple and sensitive method of determination of superoxide dismutase activity based on the reaction of quercetin oxidation. *Voprosy meditsinskoy khimii.* 1990; 36 (2): 88–91. (In Russ.)]
13. *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен).* Под ред. М.И. Прохоровой. Л.: Изд-во Ленинград. ун-та. 1982; 327 с. [Metody biokhimiticheskikh issledovaniy (lipidnyy i ehnergeticheskiy obmen). (Methods of biochemical research (lipid and energy metabolism). Ed. by Prokhorova M.I. Leningrad: Izdatel'stvo Leningradskogo universiteta. 1982; 327 p. (In Russ.)]