

УДК 616.12–009.72.–07:616.155.1–07

Вивчення активності Na/K-АТФази за ішемії міокарда

П. П. Ковальський

Дорожня лікарня № 2 на станції Стрий
Львівської залізниці



Ключові слова: Na/K-АТФаза, еритроцити, ішемія, стабільна стенокардія.

Ішемічна хвороба серця (ІХС) залишається однією з найактуальніших проблем сучасної кардіології як в Україні, так і в багатьох економічно розвинутих країнах світу з огляду на значну поширеність, високі показники інвалідизації та смертності, здебільшого серед осіб молодого, працездатного віку [8]. Їй традиційно належить одна з провідних позицій у загальній структурі кардіоваскулярної патології і за поширеністю, і за високою частотою ускладнень. Найтяжчі прояви та наслідки названої патології — нестабільна стенокардія, інфаркт міокарда, раптова коронарна смерть і серцева недостатність — зумовлюють також соціальну значущість цієї проблеми [7, 11].

Для пацієнтів з ІХС епізоди ішемії міокарда є ознакою захворювання, позаяк за різної тривалості такої ішемії виникають різні за виразністю зміни (і не лише в міокарді) [9]. Клітини міокарда мають максимальну енергоємність; що зумовлене їхнім постійним і безупинним функціонуванням упродовж життя організму людини. Основним субстратом енергетичного метаболізму міокарда є аденозинтрифосфорна кислота (АТФ) [4, 6]. За умов ішемії в міокарді будь-якого походження порушується утворення енергії та зменшуються її запаси. Із зменшенням надходження кисню в кардіоміоцити в мітохондріях скупчується велика кількість недоокиснених жирних кислот, які справляють руйнівний вплив на клітинні мембрани [1, 3].

Метою нашого дослідження було вивчити активність Na/K-АТФази та рівень концентрації моновалентних йонів (Na^+ , K^+) в еритроцитах у хворих на стабільну стенокардію.

Матеріали і методи

Ми обстежили 74 хворих на стабільну стенокардію I–IV функціонального класу за класифікацією Канадської асоціації кардіологів (ФК) віком 18–74 роки (у середньому $51,2 \pm 1,2$) року із тривалістю захворювання в середньому $(2,8 \pm 0,7)$ року. Діагноз стабільна стенокардія верифікували на підставі скарг, анамнезу, результатів клінічних і

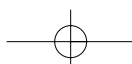
лабораторно-інструментальних досліджень. Для того щоб забезпечити однорідність вибірки та зменшити вплив сторонніх чинників на результати, до дослідження не залучали пацієнтів з артеріальною гіпертензією, нестабільною стенокардією, гострим інфарктом міокарда, цукровим діабетом, нирковою і печінковою недостатністю, аритміями високих градацій. До контрольної групи увійшли 30 осіб без істотної соматичної патології. Групи були порівнянними за віком і статтю.

Усім пацієнтам визначили активність Na/K-АТФази в еритроцитах крові [2], концентрації Na^+ та K^+ в еритроцитах (Na_i^+ та K_i^+ відповідно) і в плазмі крові (Na_e^+ та K_e^+ відповідно) [6], вираховували три концентраційні індекси: $\text{K}_i^+/\text{Na}_i^+$, $\text{K}_e^+/\text{K}_e^+$, $\text{Na}_e^+/\text{Na}_i^+$.

Статистичне опрацювання даних провели за допомогою пакета програм «Statistika for Windows 5.5» («Statsoft», США). Розподіл кожної вибірки кількісних даних порівняли з гаусівським, застосувавши критерій Шапіро — Вілка. З огляду на негативний висновок, для того щоб описати розподіли показників у досліджуваних групах, застосували такі характеристики: найменше та найбільше значення, квартилі, медіана. Порівняння показників у групах виконували за допомогою критерію Манна — Вітні. Для вивчення зв'язку двох кількісних показників оцінювали лінійну кореляцію між ними.

Результати та обговорення

Безперервна робота серця вимагає стійкого та надійного енергозабезпечення. АТФ є основним джерелом енергетичного забезпечення кардіоміоцитів [6]. Для здійснення клітинного метаболізму в цитоплазму мають постійно надходити субстрати життєдіяльності — цукри й амінокислоти. Транспортування цих молекул не може відбуватися за принципом простої дифузії: проникність мембрани для цих сполук лімітувала б швидкість обміну речовин. У клітинах існує спеціальний шлях перенесення таких субстратів за допомогою



білків-переносників, для яких рушійною силою роботи є різниця концентрацій йонів Натрію обабіч клітинної мембрани. У цьому разі транспортування потрібних субстратів у клітину відбувається разом із йонами Натрію. Отже, асиметричний розподіл йонів обабіч мембрани відіграє роль додаткового депо енергії і забезпечує енергетичну стійкість метаболізму [12].

Провідна роль у виникненні зрушень йонного гомеостазу належить модуляціям процесів обміну Na^+ . Для останніх упродовж тривалого часу застосовують вимірювання концентрації цього йону в плазмі крові та активності Na/K-ATФази еритроцитної мембрани — параметрів, за якими можна характеризувати стан активного транспорту.

Вивчаючи механізми транспортування йонів, як модельну систему широко використовують еритроцитні мембрани, позаяк в ізольованому стані вони добре зберігають такі мембранні атрибути, як відносна непроникність для йонів, функціонуючі ферменти та транспортери, потрібні для транслокації йонів та неелектролітів, зокрема субстратів для процесів окисного фосфорилування. Порушення йонограми крові та параметрів активного транспорту Na^+ з еритроцитів можуть бути пов'язаними зі збуренням процесів анаеробного гліколізу та зменшенням концентрації АТФ [6].

Оскільки кров, попри певну автономію, достатньою мірою відображає зміни трансклітинного розподілу йонів у тканинах, завдання цього дослідження передбачало виміряти концентрації Na^+ та K^+ в еритроцитах і плазмі крові та визначити активність Na/K-ATФази в еритроцитах хворих на стабільну стенокардію різних функціональних класів. Отримані результати наведено в табл. 1, де подано також три йонних концентраційних індекси та показники йонного обміну в практично здорових осіб.

Є важливим те, що у хворих на стабільну стенокардію I, II та IV ФК концентрація йонів Калію у плазмі крові статистично значущо зростає, у хворих із III ФК її рівень в еритроцитах стабільно знижується. В еритроцитах усіх обстежених хворих ми зареєстрували надмірну кількість йонів Натрію за одночасного зниження її в плазмі крові. Концентрація Na^+ виявилася параметром, значно чутливішим до несприятливих змін метаболізму, що притаманне, за даними літератури, особам із серцево-судинними захворюваннями [5].

Аналізуючи значення йонних концентраційних індексів, передусім зауважили статистично значуще зниження індексу $\text{Na}^+_{\text{e}}/\text{Na}^+_{\text{i}}$, що, на нашу думку, є наслідком зменшення фракції здатного до обміну Na^+ , яка за фізіологічних умов становить приблизно 7% від загальної кількості цього йону [10]. Що стосується йонів Калію, то змен-

шення відношення $\text{K}^+_{\text{i}}/\text{K}^+_{\text{e}}$ слід оцінювати як негативне явище, оскільки зазначена метаболічна ситуація засвідчує можливість надмірного виведення цих йонів із клітини в позаклітинне середовище [6].

Інтенсивність багатьох ферментних процесів у клітині залежить від йонів Натрію і Калію: здебільшого K^+ є активатором, а Na^+ — інгібітором клітинних реакцій. Виняток становлять процеси синтезу ліпідів, їх активує Натрій [12].

Специфічний механізм розпізнавання йонів Калію і Натрію має і Na/K-ATФаза . Як видно з табл. 1, її активність зростає лише у хворих на стабільну стенокардію III–IV ФК. На нашу думку, перерозподіл йонів Натрію обабіч еритроцитної мембрани в обстежених осіб, що страждають від стабільної стенокардії III–IV ФК, певною мірою може бути наслідком зростання активності зазначеного ферменту. Про це свідчить статистично значуще зниження еритроцитного індексу $\text{K}^+_{\text{i}}/\text{Na}^+_{\text{i}}$ — важливого показника інтенсивності овабаїн-чутливої екструзії Na^+ [2]. Виявлене зменшення концентрацій Na^+_{e} засвідчує різке зниження осмолярності плазми, що узгоджується з активацією Na/K-ATФази у хворих на стабільну стенокардію III–IV ФК, позаяк саме цей фермент, регулюючи внутрішній осмотичний тиск, забезпечує стаціонарні умови існування клітин та збалансування йонних потоків [13].

Крім того, в обстежених хворих на стабільну стенокардію I–IV ФК зареєстрували зниження індексу $\text{Na}^+_{\text{e}}/\text{Na}^+_{\text{i}}$, що свідчить про наявність катіонних перерозподілів і змін концентрацій Na^+ обабіч еритроцитної мембрани.

На нашу думку, важливим є й те, що рівень Na/K-ATФази активності еритроцитної мембрани підвищується, коли система прагне вирівняти концентрації Na^+ , тобто зі змінами асиметрії Na^+ , як це виявлено в разі стабільної стенокардії III–IV ФК. Така ситуаційна контрастність вимагає ретельно промивати еритроцитні мембрани, щоб видалити залишкові кількості розчинних активаторів цього ферменту.

Відзначили різкий «перелом» більшості кореляційних зв'язків із наростанням ФК після I класу: якщо в групі хворих на стабільну стенокардію I ФК характер кореляції є таким, як у групі практично здорових осіб, то надалі (II–IV ФК) він стає протилежним: знак змінюється з плюса на мінус і навпаки. Для пари показників: індекс $\text{K}^+_{\text{i}}/\text{K}^+_{\text{e}}$ і активність Na/K-ATФази — II ФК відіграє роль проміжної групи, в якій кореляції немає, тоді як у групах практично здорових осіб і хворих на стабільну стенокардію I ФК є сильна від'ємна кореляція, а з дальшим наростанням ФК вона є сильно позитивною (табл. 2).



Таблиця 1

Показники транспорту K^+ і Na^+ у крові та активності Na^+/K^+ -АТФази в еритроцитах у групах практично здорових осіб та хворих на стабільну стенокардію різних функціональних класів

Показник	Характеристика розподілу показника	Практично здорові особи (n = 30)	Хворі на стабільну стенокардію			
			I ФК (n = 20)	II ФК (n = 21)	III ФК (n = 17)	IV ФК (n = 16)
<i>Концентрація K^+ та Na^+ в еритроцитах, ммоль / л</i>						
K^+_i	Найменше значення	92,16	89,01	83,18	82,07	79,00
	Нижн. кuartиль (25 %)	92,83	90,06	83,87	83,87	81,66
	Медіана (50 %)	95,70	91,76	88,31	86,13	84,65
	Верхн. кuartиль (75 %)	97,88	92,00	90,00	89,22	87,83
	Найбільше значення	101,00	93,02 ^{*) II) III) IV)}	90,51 ^{*) I) IV)}	91,00 ^{*) I)}	89,00 ^{*) I) II)}
Na^+_i	Найменше значення	13,44	13,94	15,01	14,60	14,00
	Нижн. кuartиль (25 %)	14,11	14,10	15,17	14,90	16,05
	Медіана (50 %)	14,32	14,83	15,71	15,00	16,58
	Верхн. кuartиль (75 %)	14,77	15,96	15,95	16,00	17,06
	Найбільше значення	15,01	17,80 ^{II) IV)}	16,00 ^{*) I) IV)}	17,05 ^{*) IV)}	18,00 ^{*) I) II) III)}
<i>Концентрація K^+ та Na^+ у плазмі крові, ммоль / л</i>						
K^+_e	Найменше значення	3,69	4,00	4,36	3,40	3,90
	Нижн. кuartиль (25 %)	3,79	4,55	4,39	3,88	4,58
	Медіана (50 %)	3,99	4,76	4,58	3,96	4,86
	Верхн. кuartиль (75 %)	4,29	4,84	4,80	4,93	4,97
	Найбільше значення	4,49	4,98 ^{*)}	4,83 ^{*)}	5,01	5,20 ^{*)}
Na^+_e	Найменше значення	141,90	139,90	118,14	110,01	100,50
	Нижн. кuartиль (25 %)	141,95	141,01	121,03	114,61	130,0
	Медіана (50 %)	142,95	142,43	133,96	129,84	132,25
	Верхн. кuartиль (75 %)	145,36	143,82	140,16	137,92	135,76
	Найбільше значення	149,21	145,00 ^{II) III) IV)}	140,30 ^{*) I)}	140,00 ^{*) I)}	139,00 ^{*) I)}
<i>Концентраційні індекси</i>						
K^+_i / Na^+_i	Найменше значення	6,57	5,23	5,48	5,30	4,94
	Нижн. кuartиль (25 %)	6,61	5,77	5,53	5,50	5,03
	Медіана (50 %)	6,64	6,19	5,63	5,61	5,09
	Верхн. кuartиль (75 %)	6,75	6,39	5,66	5,63	5,13
	Найбільше значення	6,94	6,43 ^{*) II) III) IV)}	5,80 ^{*) I) IV)}	5,74 ^{*) I) IV)}	5,64 ^{*) I) II) III)}
K^+_i / K^+_e	Найменше значення	22,49	18,67	18,71	17,98	17,12
	Нижн. кuartиль (25 %)	22,86	19,01	18,78	18,03	17,47
	Медіана (50 %)	23,99	19,23	19,05	21,55	17,59
	Верхн. кuartиль (75 %)	24,47	19,96	19,15	21,86	17,92
	Найбільше значення	24,99	22,03 ^{*) IV)}	20,01 ^{*) IV)}	24,14 ^{*) IV)}	20,26 ^{*) I) II) III)}
Na^+_e / Na^+_i	Найменше значення	9,83	8,15	7,79	7,54	6,89
	Нижн. кuartиль (25 %)	9,87	9,01	7,98	7,71	7,70
	Медіана (50 %)	9,98	9,59	8,73	8,23	7,94
	Верхн. кuartиль (75 %)	10,06	9,99	8,78	8,46	8,01
	Найбільше значення	10,56	10,09 ^{*) II) III) IV)}	8,84 ^{*) I) IV)}	8,66 ^{*) I) IV)}	8,13 ^{*) I) II) III)}
<i>Активність ферменту в еритроцитах, мікромолів внутрішньоклітинного Фосфора на 1 мг білка за 1 год</i>						
Na^+/K^+ -АТФаза	Найменше значення	4,81	5,11	5,00	5,30	5,50
	Нижн. кuartиль (25 %)	5,33	5,79	5,33	6,01	6,5
	Медіана (50 %)	6,11	6,81	6,03	7,89	9,05
	Верхн. кuartиль (75 %)	7,39	7,95	7,77	9,14	12,15
	Найбільше значення	8,93	8,73 ^{IV)}	9,51 ^{III) IV)}	11,20 ^{II)}	13,75 ^{*) I) II)}

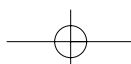
*) Значення досліджуваного показника в групі статистично значущо відрізняється за критерієм Манна — Вітні від такого в групі практично здорових осіб, $p < 0,05$.

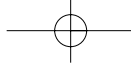
I) Те саме порівняно з групою хворих на стабільну стенокардію I ФК.

II) Те саме порівняно з групою II ФК.

III) Те саме порівняно з групою III ФК.

IV) Те саме порівняно з групою IV ФК.





Таблиця 2

Взаємозв'язок показників транспорту K^+ та Na^+ і активності Na/K -АТФази в групах практично здорових осіб та хворих на стабільну стенокардію різних функціональних класів

Показник	Коефіцієнт кореляції з активністю Na/K -АТФази				
	Практично здорові особи ($n = 30$)	Хворі на стабільну стенокардію			
		I ФК ($n = 20$)	II ФК ($n = 21$)	III ФК ($n = 17$)	IV ФК ($n = 16$)
K^+_i	0,9861 *	0,8948 *	-0,9237 *	-0,9898 *	-0,9885 *
Na^+_i	0,9212 *	0,956 *	-0,8067 *	-0,9305 *	-0,9094 *
K^+_e	0,9787 *	0,8765 *	-0,8444 *	-0,9222 *	-0,9233 *
Na^+_e	0,9194 *	0,9861 *	-0,9336 *	-0,9703 *	-0,8200 *
K^+_i / Na^+_i	0,2164	-0,9440 *	-0,7046 *	0,6896 *	0,5008 *
K^+_i / K^+_e	-0,9409 *	-0,8415 *	0,2151	0,8865 *	0,7016 *
Na^+_e / Na^+_i	-0,7332 *	-0,9605 *	-0,9085 *	-0,7566 *	-0,4066

* Кореляційний зв'язок є статистично значущим, $p < 0,05$.

Крім того, слід мати на увазі, що овабаїн-резистентні механізми транспортування моновалентних йонів мають кінетичні властивості пасивних потоків, а тому є підстави припустити, що зміни концентраційних градієнтів йонів Натрію та Калію певною мірою реалізуються шляхом модуляції функцій, які забезпечують пасивну мембранну активність.

З іншого боку, достатньо незначно ушкодити клітинну мембрану або іншим способом активувати вхід у клітину Na^+ та вихід із неї K^+ , як активується Na/K -АТФаза, що відновлюватиме йонну асиметрію. Отже, Na/K -АТФаза «працює» в клітині як молекулярна машина з помпування йонів Натрію та Калію, через це її називають натрієво-калієвою помпою [13].

Висновки

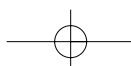
1. Na/K -АТФаза є ферментом клітинної мембрани, який бере участь у підтриманні асиметричного розподілу йонів Натрію та Калію обабіч клітинної мембрани.

2. Кореляція Na/K -АТФазної активності та характеристик транспорту йонів Натрію та Калію залежить від ступеня тяжкості стенокардії: у разі I ФК вона аналогічна нормі, за тяжкої стенокардії характер кореляції є протилежним. Це, можливо, зумовлене сильним йонним дисбалансом в організмі.

3. У хворих на стабільну стенокардію III–IV функціонального класів зареєстровано підвищений рівень Na/K -АТФазної активності еритроцитної мембрани.

Цитована література

1. Бобров В. О. Адаптаційні ішемічні і реперфузійні синдроми у хворих ішемічною хворобою серця: механізми, діагностика, обґрунтування терапії / В. О. Бобров, С. К. Кулішов. — Полтава: Дивосвіт, 2004. — 240 с.
2. Влох И. И. Состояние ионного транспорта в эритроцитах в норме и при эндогенных психозах: Автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14. 00. 16 / Ин-т физиологии им. акад. А. А. Богомольца АН УССР. — К., 1992. — 28 с.
3. Залесский В. Н. Апоптоз при ишемии и реперфузии миокарда / В. Н. Залесский, Т. И. Гавриленко, А. А. Фильченков // Лікар. справа. — 2002. — № 1. — С. 8–15.
4. Кольман Я. Наглядная биохимия. — М.: Мир, 2000. — 496 с.
5. Липовецкий Б. М. Сравнительная оценка регионального мозгового кровотока у больных с перенесенными мозговым инсультом, дисциркуляторной энцефалопатией и ишемической болезнью сердца / Б. М. Липовецкий, Г. В. Катаева, А. Д. Коротков // Журн. неврол. и психиатр. — 2002. — Т. 102, № 5. — С. 27–31.
6. Мороз О. М. Модуляция ион-транспортирующих функций невозбудимых мембран излучением гелий-неонового лазера: Автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.13 / Ин-т физиологии им. акад. А. А. Богомольца АН УССР. — К., 1990. — 37 с.
7. Особенности диагностики и терапии стабильной стенокардии в Российской Федерации (Международ. исследование АТР — Angina Treatment Patter) / Р. Г. Оганов, В. К. Лепяхин, С. Б. Фитилев и др. // Кардиология. — 2003. — № 5. — С. 9–15.





8. *Стан здоров'я населення України у зв'язку із хворобами системи кровообігу та можливі шляхи його покращення: Аналіт.-статист. посіб. для лікарів – кардіологів, ревматологів, терапевтів загальної практики / Під ред. В. М. Коваленка.— К., 2004.— 124 с.*

9. *Шаблин А. В. Защита кардиомиоцита. Современное состояние и перспективы / А. В. Шаблин, Ю. П. Микитин // Кардиология.— 1999.— № 29 (3).— С. 4–10.*

10. *Шкаволяк А. В. Кінетичний аналіз Na/Li-протитранспорту при дослідженні проникливості мембрани для іонів натрію: Огляд // Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія.— 1999.— № 1.— С. 7–11.*

11. *ACC/AHA/ACP-ASIM guidelines for the management of patients with chronic stable angina // J. Am. Coll. Cardiol.— 1999.— Vol. 33.— P. 2092–2197.*

12. *Inhibition of the N^+/H^+ exchanger attenuates the deterioration of ventricular function during pacing-induced heart failure in rabbits / S. Aker, A. K. Snaboitis, I. Konietzka et al. // Cardiovasc. Res.— 2004.— Vol. 63.— P. 273–282.*

13. *Pivotal role of reduced glutathione in oxygen-induced regulation of the Na^+/K^+ pump in mouse erythrocyte membranes / A. Y. Bogdanova, O. O. Ogunshola, C. Buer, M. Gassmann // J. Membr. Biol.— 2003.— Vol. 195.— P. 33–42.*

Изучение активности Na/K-АТФазы при ишемии миокарда

П. П. Ковальский

Обследованы 74 больных стабильной стенокардией различных функциональных классов (ФК) и 30 здоровых лиц. Показано, что у больных стабильной стенокардией III и IV ФК повышается активность Na/K-АТФазы эритроцитарной мембраны на фоне углубления нарушений внутри- и внеклеточной концентраций Na^+ , K^+ , отношений концентраций этих ионов.

The study of the Na/K-ATPase activity in the ischemia of myocardium

P. P. Koval's'kyi

The study has been held on 74 patients with stable angina pectoris of different functional classes (FC) and 30 healthy people. The examinations showed that in patients with stable angina pectoris of III and IV FC the increased activity of Na/K-ATPase of the erythrocytic membrane against the background of the aggravation of disturbances of intra- and extracellular Na^+ and K^+ concentration, and concentration ratio of these ions.

