

УДК 577.112:612

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ ОТДЕЛЬНЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Елкина Н. М.¹, Коношенко С. В.²

¹*Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*

²*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: nataleiolkina@gmail.com*

Показано, что при отдельных сердечно-сосудистых заболеваниях (ишемическая болезнь сердца, дилатационная кардиомиопатия) и гематологических заболеваниях онкологического характера (эритремия, апластическая анемия) в эритроцитах существенно возрастает активность антиоксидантных ферментов: каталазы, супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы. При железодефицитной анемии достоверно увеличивается активность супероксиддисмутазы. Отмечена хорошо выраженная согласованность в изменении активности СОД и каталазы, а также связь измененной активности изученных ферментов с видом патологии.

Ключевые слова: эритроциты, каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза, сердечно-сосудистые и гематологические заболевания.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время имеется большое количество данных литературы, свидетельствующих о нарушении прооксидантно-антиоксидантного равновесия и развитии окислительного стресса при различных заболеваниях [1–3]. Сообщается также о том, что при многих заболеваниях в патологический процесс вовлекаются эритроциты, изменяется их биохимический статус, усиливается образование активных форм кислорода, интенсифицируются реакции перекисного окисления липидов и окислительной модификации протеинов [4–6]. Учитывая это, представляется целесообразным выяснение молекулярных механизмов защиты эритроцитов от проявлений окислительного стресса, в частности изучение их антиоксидантной системы в условиях патологии.

В связи с этим, целью настоящей работы являлось изучение активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах при отдельных гематологических и сердечно-сосудистых заболеваниях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (контрольная группа – 25 человек, средний возраст – 39,0 лет), а также больных дилатационной кардиомиопатией (20 человек, средний возраст – 49,5 лет), ишемической болезнью сердца (25 человек, средний возраст – 50,0 лет), эритремией (9 человек, средний возраст – 60,0 лет), апластической анемией (11 человек, средний возраст – 56,0 лет) и железодефицитной анемией (9 человек, средний возраст – 49,0 лет).

Кровь практически здоровых людей брали на станции переливания крови г. Симферополя, кровь больных – на базе Крымского онкологического центра и 7-й горбольницы г. Симферополя.

Кровь больных брали при поступлении в стационар, перед началом лечения.

Эритроциты гемолизировали, добавляя равный объем дистиллированной воды [7]. В гемолизатах эритроцитов определяли активность каталазы [8], глутатионредуктазы [9] и супероксиддисмутазы [10], используя спектрофотометрические методы биохимического анализа.

Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Каталаза, супероксиддисмутаза и глутатионредуктаза представляют группу антиоксидантных ферментов, изучение которых дает вполне объективное представление о состоянии антиоксидантной системы на клеточном и организменном уровнях [11, 12]. Изучение активности супероксиддисмутазы (СОД) в гемолизатах эритроцитов больных сердечно-сосудистыми и гематологическими заболеваниями показало, что во всех обследованных группах наблюдается достоверное увеличение активности фермента (таблица). В группах больных сердечно-сосудистыми заболеваниями активность СОД была выше по сравнению с контрольной группой доноров: в 1,35 раза при дилатационной кардиомиопатии и в 1,6 раза при ишемической болезни сердца (ИБС).

В группах больных гематологическими заболеваниями увеличение активности фермента наблюдалось на 12,6 % при железодефицитной анемии, в 2,3 раза при эритремии и в 2,6 раза при апластической анемии.

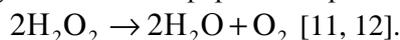
Наиболее значительные изменения активности СОД отмечены в эритроцитах больных эритремией и апластической анемией, наименее выраженные – у больных железодефицитной анемией.

Как видно из данных таблицы, значения активности СОД в эритроцитах больных ИБС и кардиомиопатией были в целом близки, однако наблюдалось преобладание активности фермента (на 17,3 %) в группе больных ИБС.

Известно, что СОД катализирует реакцию дисмутации супероксиданиона, приводя к образованию H_2O_2 :



Пероксид водорода, образующийся при действии супероксиддисмутазы, а также в реакциях, катализируемых оксидазами, расщепляется каталазой, что тем самым обезвреживает одну из активных форм кислорода:



При низкой активности каталазы образование активных форм кислорода (АФК) могло бы принять неконтролируемые размеры, поскольку пероксид водорода, не будучи свободным радикалом, способен в определенных условиях быть инициатором генерирования высокореакционных свободных радикалов (например, $\bullet\text{OH}$ -радикала) [12].

Изучение активности каталазы в гемолизатах эритроцитов позволило установить, что за исключением больных железодефицитной анемией во всех остальных обследованных группах больных прослеживается существенное достоверное увеличение активности данного фермента по сравнению с контрольной группой (таблица). У больных ИБС и кардиомиопатией активность каталазы была выше в 1,5 раза, у больных апластической анемией – в 1,8 раза, у больных эритремией – в 2,0 раза. У больных железодефицитной анемией изменения активности фермента отмечены на уровне тенденции (на 9,2 %). Как и в случае СОД, наблюдаются наиболее выраженные изменения активности каталазы в группах больных эритремией и апластической анемией.

Таблица

Активность СОД, каталазы и глутатионредуктазы в гемолизатах эритроцитов больных отдельными сердечно-сосудистыми и гематологическими заболеваниями ($M \pm m$)

Обследованные группы	Активность СОД, $\text{мкмоль} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мгНб}$	Активность каталазы, $\text{ммоль} \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$	Активность глутатионредуктазы, $\text{нмоль} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мгНб}$
Контрольная группа	$13,5 \pm 0,5$	$0,240 \pm 0,020$	$0,105 \pm 0,013$
Больные ИБС	$22,0 \pm 1,5^*$	$0,363 \pm 0,030^*$	$0,208 \pm 0,010^*$
Больные кардиомиопатией	$18,2 \pm 1,0^*$	$0,360 \pm 0,035^*$	$0,195 \pm 0,018^*$
Больные эритремией	$31,3 \pm 1,9^*$	$0,475 \pm 0,045^*$	$0,185 \pm 0,018^*$
Больные апластической анемией	$35,5 \pm 2,0^*$	$0,430 \pm 0,035^*$	$0,186 \pm 0,020^*$
Больные железодефицитной анемией	$15,2 \pm 0,6^*$	$0,262 \pm 0,020$	$0,128 \pm 0,015$

Примечание: * – достоверность различия показателя по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Не менее важным ферментом антиоксидантной системы является глутатионредуктаза, обеспечивающая поддержание в клетках необходимого уровня восстановленного глутатиона – донора атомов водорода в реакциях восстановления пероксида водорода и пероксидов липидной природы [11, 12].

При изучении активности глутатионредуктазы в гемолизатах эритроцитов практически здоровых людей и больных были получены данные, представленные в таблице. Показано, что за исключением больных железодефицитной анемией в других группах больных наблюдается достоверное увеличение активности фермента по сравнению с контрольной группой: в 2,0 раза – у больных ИБС, в 1,9 раза – у больных кардиомиопатией, в 1,8 раза – у больных эритремией и апластической анемией. У больных железодефицитной анемией отмечено лишь незначительное увеличение активности глутатионредуктазы.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о выраженной активизации ферментов антиоксидантной системы (каталазы, супероксиддисмутаза и глутатионредуктазы) в эритроцитах при ишемической болезни сердца, дилатационной кардиомиопатии, эритремии и апластической анемии. В эритроцитах больных железодефицитной анемией достоверно возрастает активность СОД и незначительно (на уровне тенденции) активность каталазы и глутатионредуктазы.

В целом проявляется хорошо выраженная согласованность в изменении активности СОД и каталазы. Изменения активности глутатионредуктазы имеют несколько иной характер. Так, если наиболее выраженные изменения активности СОД и каталазы наблюдаются в группах больных эритремией и апластической анемией, то в случае глутатионредуктазы изменения такого рода проявляются в эритроцитах больных ИБС и кардиомиопатией.

Прослеживается значительное сходство изменений активности изученных ферментов антиоксидантной системы в зависимости от вида патологии: сердечно-сосудистые заболевания (ИБС и кардиомиопатия) и гематологические заболевания онкологического характера (эритремия и апластическая анемия).

Можно предположить, что при ишемической болезни сердца и кардиомиопатии изменения в состоянии антиоксидантной системы в эритроцитах в большей степени направлены на сдерживание накопления АФК, тогда как при эритремии и апластической анемии доминируют изменения, связанные с усилением восстановительного потенциала эритроцитов.

Активизация антиоксидантных ферментов в эритроцитах при соответствующих заболеваниях должна иметь адаптивный характер и является важным звеном в цепи компенсаторных процессов, необходимых для поддержания метаболического, структурного и функционального состояния эритроцитов в условиях патологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что при ишемической болезни сердца, дилатационной кардиомиопатии, эритремии и апластической анемии в эритроцитах существенно возрастает активность супероксиддисмутаза, каталазы и

глутатионредуктазы. В эритроцитах больных железодефицитной анемией достоверно увеличивается активность супероксиддисмутазы.

2. Отмечена хорошо выраженная согласованность в изменении активности супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах больных ИБС, кардиомиопатией, эритремией и апластической анемией, а также связь изменений активности изученных антиоксидантных ферментов с видом патологии.
3. Очевидно, что увеличение активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах при соответствующих сердечно-сосудистых и гематологических заболеваниях имеет адаптивный характер и является проявлением действия компенсаторных механизмов в условиях патологии.

Список литературы

1. Азизова О. А. Взаимосвязь маркеров окислительного стресса с клиническим течением хронической ишемии мозга / О. А. Азизова // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2013, № 9. – С. 21–27.
2. Курашова Н. А. Особенности окислительного стресса при различных патологических состояниях у мужчин репродуктивного возраста / Н. А. Курашова // Бюлл. Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2012, № 2 (2). – С. 31–35.
3. Луцкий М. А. Формирование окислительного стресса как одного из звеньев сложного патогенеза социально-значимых заболеваний нервной системы – инсульта и рассеянного склероза / М. А. Луцкий, А. М. Земсков, М. А. Смелянец [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014, № 10. – С. 27–32.
4. Елкина Н. М. Процессы пероксидации липидов, метгемоглинообразования и генерирования активных форм кислорода в эритроцитах больных эритремией / Н. М. Елкина // Уч. записки Таврического нац. ун-та им. В. И. Вернадского. – Сер.: Биология, химия. – 2013. – Т. 26 (65), № 4. – С. 39–43.
5. Коношенко С. В. Особливості окиснювальної модифікації протеїнів в еритроцитах хворих на кардіоміопатію, ішемічну хворобу серця, еритремію та апластичну анемію / С. В. Коношенко, Н. М. Йолкіна // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2013, № 2. – С. 40–43.
6. Novgorodtseva T. P. Modifications of the fatty acid composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases / T. P. Novgorodtseva, Y. K. Denisenko, N. N. Zhukova [et al.] // Lipids Health Dis. – 2013, N 12. – P. 117–121.
7. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization myoglobin and haemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // Arch. Biochem. – 1959. – V. 21. – P. 224–226.
8. Королюк М. А. Метод определения каталазы / М. А. Королюк, И. Г. Иванова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988, № 1. – С. 16–19.
9. Агабели Р. А. Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты / Р. А. Агабели. – Баку, 1989. – 120 с.
10. Доценко О. И. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мшей в условиях низкочастотной вибрации / О. И. Доценко, В. А. Доценко, А. М. Мищенко // Физика живого. – 2010. – Т. 18, вып. 1. – С. 107–113.
11. Banerjee R. Redox biochemistry / R. Banerjee. – USA, 2007. – 317 p.
12. Биохимия / под ред. Е. С. Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 768 с.

STATE OF ANTIOXIDATIVE SYSTEM IN ERYTHROCYTES OF PATIENTS
WITH HAEMATOLOGICAL AND CARDIOVASCULAR DISEASES

Yolkina N. M., Konoshenko S. V.

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: nataleiolkina@gmail.com*

It is known, that under different diseases the balance in prooxidative and antioxidative processes is destroyed and oxidative stress is realized. The development of oxidative stress is connected with production of oxygen active forms, in particular, hydrogen peroxide and free radicals [1–3]. Today we have much dates about that under some diseases erythrocytes are involved in pathological process as demonstrated by biochemical changes occurring in them [4–6].

In this regard, it is interest to examine the state of antioxidative system in erythrocytes of patients with haematological and cardiovascular diseases, that was the aim of our work. The materials for the study were the erythrocytes of healthy subjects (control group) and patients with dilated cardiomyopathy (20 persons, middle age 49,5 years), ischemic heart disease (25 persons, middle age 50,0 years), erythraemia (9 persons, middle age 60,0 years), aplastic anemia (11 persons, middle age 56,0 years) and iron-deficiency anemia (9 persons, middle age 49,0 years). The blood of paticuts with diseases was taken before treatment for an illness.

The erythrocytes were hemolised by distilled water. In hemolisesates of erythrocytes the activity of catalase [7], superoxidedismutase [8] and glutation-reductase was determined [9].

All indexes were studied by spectrophotometric methods of biochemical analyses.

It has been shown, that in hemolysates of erythrocytes at all groups of patients the activity of superoxidedismutase was rised as compared with control group: at 1,35 times under dilated cardiomyopathy, at 1,6 times under ischemic heart disease, at 2,3 times under erythraemia, at 2,6 times under aplastic anemia and at 12,6 % under iron-deficiency anemia.

At the same time, the activity of catalase and glutation-reductase in erythrocytes of patients was rised also, with the exeption of patients with iron-deficiency anemia. So, the activity of catalase was rised at 1,5 times under ischemic heart disease and dilated cardiomyopathy, at 1,8 and 2,0 times under aplastic anemia and erythraemia, accordingly.

The activity of glutation-reductase was rised at 2,0 times under ischemic heart disease, at 1,9 times under dilated cardiomyopathy, at 1,8 times under erythraemia and aplastic anemia. In erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia the change of glutation-reductase activity was unimportant.

The obtained dates evidence about adaptive character of biochemical change in erythrocytes of patients and about connection these changes with type of pathology.

Keywords: erythrocytes, catalase, superoxidedismutase, glutation-reductase, cardiovascular and haematological diseases.

References

1. Azizova O. A., Interaction of markers of oxidative stress with clinical proceed of chronic brain ischemia, *J. Nevrology and psychiatry*, **9**, 21 (2013).
2. Kurashova N. A., Peculiarities of oxidative stress under different state of man in reproductive age, *Bull. East-Siberian scientific centre SD RAMN*, **2 (2)**, 31 (2012).
3. Lutskij M. A., Zemskov A. M., Smeljanets M. A., Formation of oxidative stress as one from links of difficult pathogenesis of social diseases of nervous system – insult and diffuse cerebral sclerosis, *Fundam. researches*, **10**, 27 (2014).
4. Yolkina N. M., Processes of lipids peroxide, methaemoglobin formation and oxygen active forms generation in erythrocytes of patients with erythraemia, *Sc. notes of V. I. Vernadsky Taurida university, Biology and Chemistry*, **26 (65), 4**, 39 (2013).
5. Konoshenko S. V., Yolkina N. M., Peculiarities of proteins oxidative modification in erythrocytes of patients with cardiomyopathies, ischemic heart diseases, erythraemia and aplastic anemia, *Experimental and clinical physiology and biochemistry*, **2**, 40 (2013).
6. Novgorodtseva T. P., Denisenko Y. K., Zhukova N. N., Modifications of the fatty acid composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases, *Lipids Health Dis.*, **12**, 117 (2013).
7. Koroljuk M. A., Ivanova I. G., Tokorev V. E., Method of catalase determination, *Lab. delo*, **1**, 16 (1988).
8. Dotsenko O. I., Dotsenko V. A., Mischenko A. M., Activity SOD and catalase in erythrocytes and some tissues of mouses under low level of vibration, *Physic of living*, **18, 1**, 107 (2010).
9. Agabeli R. A., Antioxidants and antioxidative enzymes, 120 (Baku, 1989).