

УДК 577.112:612

ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНОГО ЛИПИДНОГО СОСТАВА ПРИ ЭРИТРЕМИИ И АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ

Елкина Н.М., Коношенко С.В.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Россия
E-mail: yolkina@com.ua*

Установлено, что в эритроцитах больных эритремией и апластической анемией снижается содержание общих липидов, а также содержание отдельных липидных фракций. Наиболее выраженные изменения показаны для фракции фосфолипидов и фракции свободных жирных кислот.

В содержании липидных фракций эритроцитов прослеживаются различия, обусловленные видом патологии.

Ключевые слова: эритроциты, липидные фракции, окислительный стресс, эритремия, апластическая анемия.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение биохимических изменений в организме человека при различных заболеваниях и патологических состояниях является одной из задач современной медицины и биологии [1-3]. К числу заболеваний, недостаточно изученных в этом аспекте, относятся эритремия и апластическая анемия – гематологические заболевания онкологического характера.

Ранее [4] нами было показано, что при эритремии и апластической анемии в эритроцитах интенсифицируются реакции пероксидации липидов и окислительной модификации протеинов, что свидетельствует о развитии окислительного стресса, связанного с генерированием активных форм кислорода (АФК). Поскольку липиды являются одной из мишеней действия АФК, представляло интерес изучить липидный состав эритроцитов у больных эритремией и апластической анемией, что и составило цель настоящей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (контрольная группа, 20 человек, средний возраст 39,0 лет) и двух групп больных. Первая группа – больные эритремией I степени (9 человек, средний возраст 55,0 лет); вторая группа – больные апластической анемией (9 человек, средний возраст 50,0 лет).

Кровь практически здоровых людей брали на станции переливания крови г. Симферополя, кровь больных – на базе Крымского онкологического центра (г. Симферополь). Кровь брали при поступлении в стационар, перед началом лечения.

Эритроциты гемолизировали по методу [5] без добавления толуола. Липидные экстракты гемолизатов эритроцитов получали, используя метод Фолча [6]. Содержание общих липидов определяли колориметрическим методом с фосфорнованилиновым реактивом [6]. Фракционный состав липидов изучали методом тонкослойной хроматографии на пластинах с силикагелем фирмы «Мерк» [6, 7]. Использовали систему растворителей, которая содержала гексан, диэтиловый эфир и ледяную уксусную кислоту (73:25:2).

Пластины обрабатывали 10% раствором фосфорномолибденовой кислоты, выдерживая при 80-100⁰С до появления синих пятен. Идентификацию липидных фракций проводили с учетом подвижности стандартов, а также данных литературы [7].

Содержание фракций липидов выражали в мг/мл. Полученные данные обрабатывали статистически, используя t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали, что в липидном экстракте гемолизатов эритроцитов здоровых людей и больных эритремией и апластической анемией идентифицируются фосфолипиды, холестерол, моноглицериды, диглицериды, свободные жирные кислоты и стериды.

По сравнению с контрольной группой в гемолизатах эритроцитов больных эритремией наблюдаются достоверные изменения количественного содержания практически всех фракций липидов (табл. 1). Отмечено снижение содержания фосфолипидов (в 6,2 раза), холестерола (в 4,6 раза), моноглицеридов (в 3,6 раза), диглицеридов (в 2,2 раза), свободных жирных кислот (в 21,7 раза) и стеридов (в 5,6 раза). Наиболее выраженные изменения прослеживаются в содержании свободных жирных кислот и фосфолипидов. При этом содержание общих липидов в гемолизатах эритроцитов больных эритремией было в 6,1 раза меньше по сравнению с контрольной группой доноров (0,83±0,01 мг/мл против 5,03±0,19 мг/мл у доноров).

Таблица 1

Липидный состав гемолизатов эритроцитов больных эритремией (M ± m)

Фракции липидов	Содержание липидных фракций, мг/мл	
	Контрольная группа	Больные эритремией
Фосфолипиды	0,81 ± 0,02	0,13 ± 0,005*
Холестерол	0,65 ± 0,01	0,14 ± 0,008*
Моноглицериды	0,57 ± 0,01	0,16 ± 0,008*
Диглицериды	0,24 ± 0,008	0,11 ± 0,005*
Свободные жирные кислоты	1,3 ± 0,03	0,06 ± 0,005*
Стериды	0,73 ± 0,02	0,13 ± 0,004*

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

Аналогичные изменения прослеживаются в липидном спектре гемолизатов эритроцитов больных апластической анемией (табл. 2). По сравнению с контрольной группой у больных апластической анемией наблюдается достоверно меньшее содержание фосфолипидов (в 3,2 раза), диглицеридов (в 2,0 раза), свободных жирных кислот (в 10,8 раза) и стеридов (в 2,4 раза). Содержание общих липидов в гемолизатах эритроцитов больных апластической анемией было также значительно ниже: в 4,0 раза по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2

Липидный спектр гемолизатов эритроцитов больных апластической анемией (M ± m)

Фракции липидов	Содержание липидных фракций, мг/мл	
	Контрольная группа	Больные эритремией
Фосфолипиды	0,81 ± 0,02	0,18 ± 0,008*
Холестерол	0,65 ± 0,01	0,21 ± 0,008*
Моноглицериды	0,57 ± 0,01	0,18 ± 0,009*
Диглицериды	0,24 ± 0,008	0,12 ± 0,006*
Свободные жирные кислоты	1,3 ± 0,03	0,12 ± 0,006*
Стериды	0,73 ± 0,02	0,30 ± 0,01*

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

Как и у больных эритремией, в эритроцитах больных апластической анемией наблюдаются более выраженные изменения в содержании свободных жирных кислот и фосфолипидов.

Однако, несмотря на общую в целом направленность изменений в содержании липидных фракций, следует отметить некоторые особенности липидного спектра гемолизатов эритроцитов больных, обусловленные видом патологии. Так, в эритроцитах больных эритремией, изменения в содержании фосфолипидов, холестерина, стеридов и свободных жирных кислот были более значительными по сравнению с эритроцитами больных апластической анемией. Особенно выраженными оказались различия в содержании свободных жирных кислот: у больных эритремией количественное содержание этой фракции было в 2,0 раза ниже, чем у больных апластической анемией.

Как известно из литературы [8], основной мишенью для АФК в реакциях пероксидации липидов являются полиненасыщенные жирные кислоты, высоким содержанием которых отличаются фосфолипиды, в частности, лецитины. Утратив остаток жирной кислоты в β-положении в результате разрушительного действия

АФК, лецитины превращаются в лизолецитины, характеризующиеся способностью проявлять гемолитический эффект [9].

Из этого следует, что усиление перекисидации липидов в эритроцитах при эритремии и апластической анемии может быть фактором, создающим условия для повреждения эритроцитарной мембраны, нарушения ее целостности и структурно-функционального состояния.

Вместе с этим, деструктивные процессы, осуществляемые под действием АФК и связанные с распадом липидных компонентов в цитозоле эритроцитов, ведут к снижению уровня резервных липидов, которые могли бы использоваться для репарации поврежденных участков эритроцитарной мембраны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании результатов исследований можно сделать следующие выводы:

1. При эритремии и апластической анемии в эритроцитах снижается содержание общих липидов, а также содержание отдельных липидных фракций. Наиболее выраженные изменения показаны для фракции фосфолипидов и фракции свободных жирных кислот.
2. Несмотря на общую, в целом, направленность изменений в содержании липидных фракций эритроцитов двух групп больных, наблюдаются различия, обусловленные видом патологии.
3. При эритремии изменения в содержании отдельных липидных фракций в эритроцитах являются более выраженными, чем при апластической анемии.

Список литературы

1. Меньшиков Е.Б. Окислительный стресс при воспалении / Е.Б. Меньшиков, Н.К. Зенков // Усп. совр. биол. – 1997. – Т. 117, № 2. – С. 155-169.
2. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии / Ю.А. Владимиров // Биохимия. – 2004. – Т. 69, вып. 1. – С. 5-7.
3. Kaur K. Lipid peroxidation and the level of antioxidant enzymes in coronary artery disease / K. Kaur // Indian J. of Clin. Biochem. – 2008. – V. 23, № 1. – P. 33-37.
4. Ёлкина Н.М. Процессы перекисидации липидов, метгемоглобинообразования и генерирования активных форм кислорода в эритроцитах больных эритремией / Н.М. Ёлкина // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – Серия: «Биология, химия». – Т. 26 (65), № 4. – С. 39-45.
5. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization myoglobin and haemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // Arch. Biochem. – 1949. – V. 21. – P. 224-226.
6. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. А.А. Покровского. – М.: Медицина, 1969. – С. 28-30.
7. Филиппович Ю.Б. Практикум по общем биохимии / Ю.Б. Филиппович, Т.А. Егорова, Г.А. Севастьянова. – М.: Просвещение, 1975. – 259 с.
8. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
9. Биологические мембраны / Под ред. П.В. Сергеева. – М.: Медицина, 1973. – 248 с.

CHANGES OF INTRAERYTHROCYTES LIPIDS CONTENT UNDER ERYTHRAEMIA AND APLASTIC ANEMIA

Yolkina N., Konoshenko S.

*Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Russia
E-mail: nataleiolkina@gmail.com*

Elucidation of the molecular basis of various diseases and pathological states of human organism is one of the most significant problems of medicine and biology [1, 2].

It is known, that much diseases are connected with development of oxidative stress when the production of oxygen active forms (AFO) is intensified [3].

Lipids are one of the main targets for AFO [3]. In this connection, the studying of lipid content in the cells of different type under diseases with oxidative stress may has importance for understanding of molecular bases of different diseases, in particular, of hematological illnesses.

Given that under some diseases erythrocytes are involved in pathological process [4, 5] the aim of the present work was to study the content different lipids fractions in erythrocytes of patients with erythraemia and aplastic anemia.

The materials for the study were the erythrocytes of healthy subjects (control group) and patients with erythraemia I degree (9 patients at the age from 50,0 to 60,0 years) and with aplastic anemia (9 patients at the age from 45,0 to 55,0 years). The blood was taken in Simferopol Oncological Centre before treatment for an illness.

The erythrocytes were hemolysated by distilled water. In hemolysates of erythrocytes the contents of total lipids and some lipids fractions were determined.

Lipids of hemolysates were fractionated by method of thin-layer chromatography on plates with silicagel of "Merk" [6].

It has been shown that in erythrocytes of patients with erythraemia and aplastic anemia the content of total lipids was lowered (506% and 337% less as compared with control group, for patients of first and second groups, accordingly). At the same time the content of different lipids fractions is lowered also (phospholipids, cholesterol, monoacylglycerols, diacylglycerols, free fatty acids and steroids). The changes of the content of phospholipids and free fatty acids were more considerable. It is known [7] that the main target for action of oxygen active forms in the cells are polyunsaturated fatty acids (PUFA). The distruction of PUFA and other fatty acids in erythrocytes may be one of the cause of lowering of the level of reserve lipids which are utilised for reparation of erythrocyte membrane.

It must be noted that the changes of the content of lipids fractions in erythrocytes of patients with erythraemia were more considerable as compared with aplastic anemia.

Thus, under erythraemia and aplastic anemia the lowering of the content of different lipids fractions in erythrocytes is observed. These changes of lipids content in erythrocytes under erythraemia and aplastic anemia have connect with type of pathology.

Keywords: erythrocytes, lipids fractions, oxidative stress, erythraemia, aplastic anemia.

References

1. Dubinina E.E., Pustigina A.V., Oxidative modification of proteins, its importance in pathological states, Ukr. biochem. J., **80**, **6**, 5 (2008).
2. Menshikov E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z., Oxidative stress: pathological states and diseases, 284 p. (ARTA, Novosibirsk, 2008).
3. Menshikov E.B., Zenkov N.K., Oxidative stress under inflammation, Impr. mod. biol., **117**, **2**, 155 (1997).
4. Yolkina N.M., Konoshenko S.V., Shashua I., Enzymatic activity of human erythrocytes under ischemic heart disease with oxidative stress, Scientific Notes of Taurida National V.I. Vernadsky University; Biology, chemistry, **24** (**62**), **2**, 124 (2011).
5. Novitski V.V., Goldberg V.E., Kolosova M.V., Protein specter of erythrocyte membranes of patients with lung cancer and tumours of head and neck, Bul. experim. biol. and med., **suppl. 1**, 18 (1999).
6. Pokrovsky A.A., Biochemical methods of clinical investigations, 450 p. (Medicine, Moscow, 1969).
7. Vladimirov U.A., Peroxidation of lipids in biological membranes, 252 p. (Science, Moscow, 1972).

Поступила в редакцию 08.11.2014 г.