

УДК 577.112:612

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ И ПЕРОКСИДАЦИЯ ЛИПИДОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ

Елкина Н. М., Коношенко С. В.

*Таврическая академия Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского,
Симферополь, Россия
E-mail: nataleiolkina@gmail.com*

Показано, что в эритроцитах больных железодефицитной анемией интенсифицируются реакции пероксидации липидов, изменяется количественное содержание отдельных липидных фракций. Наблюдается существенное снижение содержания свободных жирных кислот.

Ключевые слова: эритроциты, пероксидация липидов, липидные фракции, окислительный стресс, железодефицитная анемия.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время утвердилось представление о том, что многие заболевания сопровождаются развитием окислительного стресса, связанного с усиленным генерированием активных форм кислорода (АФК) [1, 2]. Одной из мишеней действия АФК являются соединения липидной природы, которые входят в состав клеточных мембран, а также внутриклеточных белково-липидных комплексов [3, 4]. Деструктивное действие АФК на липидные компоненты клеток приводит к образованию первичных и, в дальнейшем, вторичных продуктов пероксидации липидов (ПОЛ), накопление которых представляет определенную опасность для организма. Известно, что многие из вторичных продуктов ПОЛ воздействуют на протеины, приводя к их структурным и функциональным изменениям [5]. Выяснение процессов распада липидов в клетках в условиях окислительного стресса является одной из задач современной медицины и биологии.

Несмотря на всю широту исследований, в этом аспекте до сих пор остаются малоизученными процессы распада липидов при различных по этиологии заболеваниях гематологического характера.

В связи с этим представляло интерес изучить особенности пероксидации липидов и липидный состав в эритроцитах при железодефицитной анемии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (контрольная группа – 20 человек, средний возраст – 39,0 лет) и больных 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 (г. Симферополь). Кровь больных брали при поступлении в стационар, перед началом лечения.

Эритроциты гемолизировали по методу [6] без добавления толуола. Липидные экстракты гемолизатов эритроцитов получали, используя метод Фолча [7]. Содержание общих липидов определяли колориметрическим методом с фосфорнованилиновым реактивом [7]. Фракционный состав липидов изучали методом тонкослойной хроматографии на пластинах с силикагелем фирмы «Мерк» [8]. Использовали систему растворителей, которая содержала гексан, диэтиловый эфир и ледяную уксусную кислоту (73:25:2). Пластины обрабатывали 10 % раствором фосфорномолибденовой кислоты, выдерживая при 80–100°C до появления синих пятен. Идентификацию липидных фракций проводили с учетом подвижности стандартов, а также данных литературы [8]. Содержание фракций липидов выражали в мг/мл.

Вторичные продукты ПОЛ (ТБК-активные продукты) определяли спектрофотометрическим методом, описанным в литературе [9]. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты исследований, в липидном экстракте гемолизатов эритроцитов практически здоровых людей и больных железодефицитной анемией идентифицируются фосфолипиды, холестерол, моноглицериды, диглицериды, свободные жирные кислоты и стериды. По сравнению с контрольной группой доноров в гемолизатах эритроцитов больных железодефицитной анемией наблюдаются достоверные изменения количественного содержания всех отмеченных фракций липидов (табл. 1). Показано незначительное, но достоверное снижение содержания фосфолипидов (на 28,4 %), а также существенное снижение содержания свободных жирных кислот (в 4,5 раза) по сравнению с контрольной группой. На фоне снижения содержания отмеченных фракций наблюдается повышение количественного содержания моноглицеридов (на 26,3 %) и диглицеридов (в 1,8 раза). Наиболее выраженные изменения прослеживаются в содержании свободных жирных кислот.

Известно, что фосфолипиды и жирные кислоты являются основной мишенью для АФК в реакциях пероксидации липидов [10]. Вместе с этим, в условиях усиленного генерирования АФК в реакции ПОЛ могут вовлекаться триацилглицериды, утрачивая остатки жирных кислот, атакуемых, прежде всего, •ОН-радикалом и супероксиданионом. По всей вероятности, это и является причиной достаточно выраженного увеличения процентной доли моноглицеридов и, особенно, диглицеридов – продуктов неполного распада триглицеридов в гемолизатах эритроцитов больных.

Об активизации реакций пероксидации липидов в эритроцитах больных железодефицитной анемией свидетельствуют также данные, полученные при

изучении содержания общих липидов и вторичных продуктов ПОЛ (табл. 2). Показано, что содержание общих липидов в гемолизатах эритроцитов больных снижается в 1,46 раза, тогда как содержание ТБК-активных продуктов возрастает в 1,4 раза по сравнению с контрольной группой.

Прослеживаемая согласованность этих данных является свидетельством того, что основной причиной изменения липидного состава гемолизата эритроцитов больных железодефицитной анемией является интенсификация реакций ПОЛ. При этом не исключено, что некоторая часть липидных компонентов цитозоля эритроцитов может использоваться для репарации поврежденных участков эритроцитарной мембраны.

Таблица 1

Липидный состав гемолизата эритроцитов больных железодефицитной анемией (M±m)

Фракции липидов	Содержание липидных фракций, мг/мл	
	Контрольная группа	Больные железодефицитной анемией
Фосфолипиды	0,81 ± 0,02	0,58 ± 0,01*
Холестерол	0,65 ± 0,01	0,58 ± 0,008*
Моноглицериды	0,57 ± 0,01	0,72 ± 0,02*
Диглицериды	0,24 ± 0,008	0,43 ± 0,001*
Свободные жирные кислоты	1,3 ± 0,03	0,29 ± 0,008*
Стериды	0,73 ± 0,02	0,58 ± 0,01*

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

Таблица 2

Содержание общих липидов и ТБК-активных продуктов пероксидации липидов в гемолизате эритроцитов больных железодефицитной анемией (M±m)

Обследованные группы	Содержание общих липидов, мг/мл	Содержание ТБК-активных продуктов, ед.опт.пл./мл гемолизата
Контрольная группа	5,03 ± 0,19	0,127 ± 0,015
Больные железодефицитной анемией	3,45 ± 0,18*	0,179 ± 0,01*

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

1. В эритроцитах больных железодефицитной анемией интенсифицируются реакции перекисидации липидов, о чем свидетельствует снижение содержания общих липидов и увеличение содержания ТБК-активных продуктов ПОЛ.
2. В условиях данной патологии в эритроцитах изменяется количественное содержание отдельных липидных фракций. Наблюдается выраженное снижение содержания свободных жирных кислот, что может быть связано с разрушительным действием активных форм кислорода.

Список литературы

1. 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.
2. Меньшиков Е. Б. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания / Е. Б. Меньшиков. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
3. Горожанская Э. Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях / Э. Г. Горожанская // Клин. лаб. диагн. – 2010, № 6. – С. 28–32.
4. Турпаев К. Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов / К. Т. Турпаев // Биохимия. – 2002. – Т. 76, вып. 3. – С. 339–352.
5. Муравлева Л. Е. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования / Л. Е. Муравлева, В. Б. Молотов-Лучанский, Д. А. Клюев // Фундаментальные исследования. – 2010, № 1. – С. 74–78.
6. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization of myoglobin and hemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // Arch. Biochem. – 1949. – V. 21. – P. 224–226.
7. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. Покровского А. А. М.: Медицина. – 1969. – С. 287–288.
8. Филлипович Ю. Б. Практикум по общей биохимии / Ю. Б. Филлипович, Т. А. Егорова, Г. А. Севастьянова // М.: Просвещение, 1975. – 318 с.
9. Ohkawa H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yogi // Analit. Biochem. – 1979. – N 2. – P. 351–358.
10. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело, 1983, № 3. – С. 34–37.

THE CONTENT AND PEROXIDATION OF LIPIDS IN ERYTHROCYTES UNDER IRON-DEFICIENCY ANEMIA

Yolkina N.M., Konoshenko S.V.

*V.I. Vernadsky Crimea Federal University, Simferopol, Crimea, 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 [1-3]. It

is known, that under different diseases the oxidative stress is realized [4]. The development of oxidative stress is connected with production of oxygen active forms, in particular free radicals.

Given that under some diseases erythrocytes are involved in pathological process [5], the aim of the present work was to study the content of lipids and processes of lipids peroxidation in erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia.

The materials for the study were the erythrocytes of 20 healthy subjects (control group), middle age – 39,0 years and patients with iron-deficiency anemia (9 patients, middle age – 49,0 years). The blood was taken in Crimea Oncological Centre before treatment for an illness. The erythrocytes were hemolysed by distilled water. In hemolysates of erythrocytes were determined the total lipids [6], some lipids fractions [7] and secondary products of lipids peroxidation [8].

It has been shown, that in erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia the reactions of lipids peroxidation are intensified. The content of total lipids was lowred (31,4% less) and the level of TBA-products of lipids peroxidation was rised (41,0% higher as compared with control group). At the same time the content of different lipids fractions was changed. So, the content of phospholipids and free fatty acids was lowred (28,4% and 225,0%, accordingly). The content of monoglycerides and diglycerides was rised (26,3% and 90,0%, accordingly). More significant changes have been shown for content of free fatty acids.

The changes that are observed may be used as indexes of development of oxidative stress under hematological diseases.

Keywords: erythrocytes, lipids peroxidation, lipids fractions, oxidative stress, iron-deficiency anemia.

References

1. Vladimirov U.A., Active forms of oxygen and nitrogen: significance for diagnoses, prevention and therapia, *Biochemistry*, **69**, 1, 5 (2004).
2. Menshikov E.B., Zenkov N.K., Oxidative stress under inflammation, *Impr. mod. biol.*, **117**, 2, 155 (1997).
3. Menshikov E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z., Oxidative stress: pathological states and diseases, 284 p. (ARTA, Novosibirsk, 2008).
4. Turpaev K.T. Oxygen active forms and regulation of genes erpression, *Biochemistry*, **76**, 3, 339 (2002).
5. Yolkina N.M., Konoshenko S.V., Shashua I., Enzym activity of human erythrocytes under ischemic heart disease, *Scientific Notes V.I. Vernadsky Taurida National University*, **24 (63)**, 2, 124 (2011).
6. Pokrovsky A.A., *Biochemical methods of investigation in clinic*, 388 p. (Medicine, Moscow, 1969).
7. Fillipovich U.B. Egorova T.A. Sevastyanova G.A., *Practical biochemistry*, 318 p. (Education, Moscow, 1975).
8. Ohkawa H., Ohishi N., Yogi K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analit. Biochem*, **2**, 351 (1979).

Поступила в редакцию 26.10.2015 г.