

**УДК 577.112:612**

## **ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТОВ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ ФОРМИРОВАНИЕ ИХ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРИ ОТДЕЛЬНЫХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ И ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

*Елкина Н. М.<sup>1</sup>, Казакова В. В.<sup>1</sup>, Загноенко Н. Е.<sup>1</sup>, Коношенко С. В.<sup>2</sup>*

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

*<sup>2</sup>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 (эритремия, апластическая анемия, железodefицитная анемия) в эритроцитах возрастает активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы и глутатионредуктазы.

Повышение активности ферментов, занятых в поддержании восстановительного потенциала клеток сочетается с уменьшением содержания в эритроцитах низкомолекулярных нитрозотиолов, что свидетельствует о возможности высвобождения определенной части глутатиона из процессов нитрозилирования и более эффективного его использования в восстановительных реакциях.

**Ключевые слова:** эритроциты, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа, глутатионредуктаза, низкомолекулярные нитрозотиолы, глутатион, сердечно-сосудистые и гематологические заболевания.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Изучение биохимических изменений в организме человека при различных заболеваниях и патологических состояниях является одной из задач современной медицины и биологии. Известно, что в условиях патологии нарушается прооксидантно-антиоксидантное равновесие, развивается окислительный и нитрозативный стресс, обусловленный, главным образом, более интенсивным генерированием активных форм кислорода (АФК) и азота, оказывающих на клеточные и молекулярные системы деструктивное воздействие [1–3]. Имеются данные, свидетельствующие о том, что при некоторых заболеваниях подобные процессы осуществляются и в эритроцитах: усиливается образование АФК, интенсифицируются реакции пероксидации липидов и окислительной модификации протеинов, изменяется протеиновый спектр эритроцитарной мембраны [4–7].

Учитывая это, представляется целесообразным выяснение молекулярных механизмов защиты эритроцитов от проявлений окислительного и нитрозативного стресса, в частности, изучение процессов, связанных с формированием их восстановительного потенциала.

В связи с этим, целью настоящей работы являлось изучение активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы и глутатионредуктазы, а также образования низкомолекулярных нитрозотиолов 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 [8]. В гемолизатах эритроцитов определяли активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы [9] и глутатионредуктазы [10], а также содержание низкомолекулярных нитрозотиолов [11], используя спектрофотометрические методы количественного анализа.

Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Как известно из литературы [11], ключевую роль в поддержании восстановительного потенциала клеток, в том числе и эритроцитов, играет глутатион, в образовании восстановленной формы которого занят один из ферментов антиоксидантной системы – глутатионредуктаза. В качестве кофермента глутатионредуктаза использует восстановленный НАДФ, источником которого служат первые две реакции пентозофосфатного пути утилизации глюкозы, в частности, реакция, катализируемая глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназой [11].

При изучении активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы в эритроцитах больных сердечно-сосудистыми и гематологическими заболеваниями были получены данные, представленные в табл. 1. Из этих данных следует, что в группах больных сердечно-сосудистыми заболеваниями отмечается достоверное увеличение активности данного фермента по сравнению с контрольной группой доноров: в 1,7 раза при ишемической болезни сердца (ИБС) и в 2,0 раза при дилатационной кардиомиопатии.

В группах больных гематологическими заболеваниями существенные изменения данного показателя эритроцитов прослеживаются при эритремии и апластической анемии. При этих заболеваниях также наблюдается увеличение активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы: в 1,7 раза при эритремии и в 1,8 раза

при апластической анемии. У больных железодефицитной анемией отмечено незначительное увеличение активности фермента (на уровне тенденции).

Увеличение активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы сочеталось с увеличением активности глутатионредуктазы, что проявляется во всех обследованных группах больных по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Так, у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями активность глутатионредуктазы возрастала: практически в 2,0 раза при ишемической болезни сердца и в 1,8 раза – при кардиомиопатии. В группах больных эритремией и апластической анемией активность фермента превышала показатель контрольной группы, в среднем, в 1,8 раза. В эритроцитах больных железодефицитной анемией активность глутатионредуктазы была выше на 22 % по сравнению с контрольной группой.

**Таблица 1**

**Активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы и глутатионредуктазы в гемолизатах эритроцитов больных сердечно-сосудистыми и гематологическими заболеваниями (M ± m)**

Обследованные группы	Активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, нмоль·мин <sup>-1</sup> ·мгHb <sup>-1</sup>	Активность глутатионредуктазы, нмоль·мин <sup>-1</sup> ·мгHb <sup>-1</sup>
Контрольная группа	0,047 ± 0,002	0,105 ± 0,013
Больные ИБС	0,08 ± 0,008*	0,208 ± 0,010*
Больные кардиомиопатией	0,093 ± 0,009*	0,195 ± 0,018*
Больные эритремией	0,081 ± 0,005*	0,185 ± 0,018*
Больные апластической анемией	0,083 ± 0,007*	0,186 ± 0,020*
Больные железодефицитной анемией	0,054 ± 0,004	0,128 ± 0,015

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

В целом, прослеживается хорошо выраженная согласованность в изменении активности глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы. Из этого следует, что первая реакция пентозофосфатного пути утилизации глюкозы является наиболее значимой для формирования нужного уровня восстановительных эквивалентов в форме НАДФН в условиях соответствующих сердечно-сосудистых и гематологических заболеваний. Учитывая близкий уровень изменения активности глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы в эритроцитах больных можно предположить, что в условиях данных заболеваний развиваются общенаправленные компенсаторно-адаптивные биохимические перестройки, связанные с необходимостью усиления в эритроцитах восстановительного

потенциала системы глутатиона и предупреждения развития окислительных процессов деструктивного характера.

Из литературы также известно, что глутатион является одним из субстратов в реакциях нитрозилирования, связанных с метаболизмом оксида азота, в результате которых образуются как низкомолекулярные, так и высокомолекулярные нитрозотиолы. Одним из низкомолекулярных нитрозотиолов является нитрозоглутатион [11]. Нитрозилированный глутатион утрачивает свои восстановительные свойства и, в связи с этим, накопление нитрозоглутатиона может привести к снижению восстановительного потенциала эритроцитов.

При изучении содержания в гемолизатах эритроцитов низкомолекулярных нитрозотиолов были получены данные, представленные в табл. 2. Как показали результаты наших исследований, в большинстве обследованных групп больных прослеживается более низкое содержание в эритроцитах низкомолекулярных нитрозотиолов по сравнению с контрольной группой доноров. Наиболее существенное снижение уровня НМНТ отмечено у больных ишемической болезнью сердца (в 3,4 раза) и дилатационной кардиомиопатией (в 1,9 раза). В группах с гематологическими заболеваниями наиболее выраженное снижение содержания в эритроцитах НМНТ показано для больных железодефицитной анемией (в 1,5 раза) и эритремией (на 25,5 %). У больных апластической анемией наблюдалось незначительное снижение содержания НМНТ (на уровне тенденции).

Таблица 2

**Содержание низкомолекулярных нитрозотиолов (НМНТ) в гемолизатах эритроцитов больных отдельными сердечно-сосудистыми и гематологическими заболеваниями (M ± m)**

Обследованные группы	Содержание НМНТ, $\text{пмоль} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мгHb}^{-1}$
Контрольная группа	$38,0 \pm 4,18$
Больные ИБС	$11,30 \pm 0,80^*$
Больные кардиомиопатией	$20,23 \pm 2,70^*$
Больные эритремией	$28,30 \pm 1,98^*$
Больные апластической анемией	$35,27 \pm 2,58$
Больные железодефицитной анемией	$25,94 \pm 2,80^*$

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

Снижение содержания низкомолекулярных нитрозотиолов в эритроцитах при соответствующих заболеваниях свидетельствует о возможности высвобождения определенной части глутатиона из процессов нитрозилирования, что создает условия для более активного его использования в восстановительных реакциях и, следовательно, усиления восстановительного потенциала эритроцитов.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, результаты исследований позволяют сделать следующие выводы:

1. В эритроцитах больных сердечно-сосудистыми заболеваниями (ишемическая болезнь сердца и дилатационная кардиомиопатия) и заболеваниями гематологического характера (эритремия, апластическая анемия, железодефицитная анемия) увеличивается активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы и глутатионредуктазы. Прослеживается хорошо выраженная согласованность в изменении активности ферментов, занятых в поддержании восстановительного потенциала эритроцитов.
2. В эритроцитах больных снижается содержание низкомолекулярных нитрозотиолов, что свидетельствует о возможности высвобождения части глутатиона из процессов нитрозилирования и, как следствие, оптимизации уровня его восстановленной формы для более активного использования в восстановительных реакциях.

## **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, метгемоглобинообразования 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. Новицкий В. В. Белковый спектр мембран эритроцитов у больных раком легкого и с опухолями головы и шеи / В. В. Новицкий, В. Е. Гольдберг, М. В. Колосова и др. // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1999. – Прил. 1. – С. 18–20.
8. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization of myoglobin and haemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // Arch. Biochem. – 1959. – V. 21. – P. 224–226.
9. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии / Г. А. Кочетов. – М.: Высшая школа, 1980. – 271 с.
10. Агабели Р. А. Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты / Р. А. Агабели. – Баку, 1989. – 120 с.
11. Сагач В. Ф. Порушення ендотелій – залежних реакцій аргіназного та NO-синтазного шляхів обміну L-аргініну при артеріальній гіпертензії / В. Ф. Сагач, О. В. Базілюк, А. В. Коцюруба та інші // Фізіол. журн. – 2000. – 46, № 3. – С. 3–13.

**THE INDEXES OF ERYTHROCYTES CHARACTERIZED FORMATION OF  
OXIDATIVE-REDOX POTENTIAL UNDER SOME CARDIOVASCULAR AND  
HAEMATOLOGICAL DISEASES**

*Yolkina N. M., Kazakova V. V., Zagnoenko N. E., 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 and nitricoxide stress is realized. These processes are connected with production of oxygen and nitric active forms, that leads to changes of molecular and cellular structures [1–3]. Today we have much dates about that under some diseases erythrocytes are involved in pathological process as demonstrated by biochemical changes occuring in them [4–6].

In this regard, it is interest to examine the state of the system, that is connected with formation of redox potential in erythrocytes under some cardiovascular and haematological 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 patients with diseases was taken before treatment for an illness.

The erythrocytes were hemolysated by distilled water. In hemolysates of erythrocytes the activity of glucose-6-phosphate-dehydrogenase [7] and glutation-reductase [8] and content of low-molecular nitrosothiols (LMNT) [9] were determined. All indexes were studied by spectrophotometric methods of biochemical analyses.

It has been shown, that in hemolysates of erythrocytes in all groups of patients the activity of glucose-6-phosphate-dehydrogenase was rised as compared with control group: at 1,7 times under ischemic heart disease, at 2,0 times under dilated cardiomyopathy, at 1,7 times under erythraemia and at 1,8 times under aplastic anemia. In erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia the activity of enzyme was on the level of control group.

At the same time, the activity of glutation-reductase was rised also: at 2,0 times under ischemic heart disease, at 1,86 times under cardiomyopathy, at 1,8 times under erythraemia and aplastic anemia and at 22% under iron-deficiency anemia.

It is known, that glutatione is one from substrates to nitrosilation, that is connected with NO metabolism [9].

It has been shown, that in hemolysates of erythrocytes in the most groups of patients the content of low-molecular nitrosothiols (LMNT) was lowed as compared with control group: at 3,4 times under ischemic heart disease, at 1,9 times under cardiomyopathy, at 1,5 times under iron-deficiency anemia and at 25,5% under erythraemia. In erythrocytes of patients with aplastic anemia the change of LMNT content was on the level of tendency.

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

**Keywords:** erythrocytes, glucose-6-phosphate-dehydrogenase, glutation-reductase, low-molecular nitrosothiols (LMNT), glutatione, cardiovascular and haematological diseases.

#### References

1. Azizova O. A., Interaction of markers of oxidative stress with clinical proceed of chronic brain ischemia, *J. Neurology 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 peroxidation, 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 cardiomyopathy, ischemic heart disease, 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. Kochetov G. A., *Enzymology practice textbook*, 271 (Moscow, 1980).
8. Agabeli R. A., *Antioxidants and antioxidative enzymes*, 120 (Baku, 1989).
9. Sagach V. F., Baziljuk O. V., Kotsuruba A. V., Buhanevich O. M., Distroying of endothelial – dependent reactions of arginasis and NO-synthesis way of L-arginine metabolism under arterial hypertension, *Physiol. J.*, **46**, **3**, 3 (2000).