

**УДК 577.112:612**

## **ПРОЦЕССЫ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ ОСТРОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ**

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

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

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

Показано, что при остром пиелонефрите в мембранах эритроцитов активизируются реакции перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует снижение количественного содержания общих липидов и существенное повышение уровня первичных и вторичных продуктов ПОЛ. Вместе с этим в эритроцитах изменяется активность отдельных антиоксидантных ферментов: снижается активность глутатионредуктазы и повышается активность каталазы и супероксиддисмутазы.

Обсуждается вопрос о возможности развития в эритроцитах адаптивно-компенсаторных процессов.

**Ключевые слова:** эритроциты, пероксидация липидов, каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза, острый пиелонефрит.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Изучение биохимического состояния организма человека при различных заболеваниях является одной из задач современной биологии и медицины. Большого внимания заслуживают работы, в которых обсуждается вопрос о роли окислительного стресса в развитии патологии и о тех деструктивных процессах, которые осуществляются на клеточном и молекулярном уровнях под действием активных форм кислорода (АФК) [1–3]. В настоящее время накопилось достаточно большое количество данных, свидетельствующих о вовлечении в патологический процесс эритроцитов даже при заболеваниях не гематологического характера [4–7], об изменении их биохимического состояния, и предстоит понять, какие из этих изменений имеют адаптивный характер и как можно было бы использовать показатели эритроцитарного метаболизма в качестве маркера для оценки степени тяжести патологии.

Одной из патологий, недостаточно изученных в этом аспекте, является пиелонефрит. В связи с этим целью настоящей работы было изучение процессов пероксидации липидов и активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах при остром пиелонефрите.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (контрольная группа – 25 человек, средний возраст – 39,0 лет) и больных острым пиелонефритом (20 человек, средний возраст – 42,0 года).

Кровь больных брали на базе 7-й горбольницы г. Симферополя, кровь практически здоровых людей – на базе ГБУЗ РК «Центр крови» (г. Симферополь).

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

Эритроциты гемолизировали, добавляя равный объем дистиллированной воды [8]. Мембраны эритроцитов отделяли от гемолизата центрифугированием при 8000 об/мин. в течение 20 мин. В мембранах эритроцитов определяли содержание общих липидов [9], а также первичных [10] и вторичных (ТБК-активных) продуктов перекисидации липидов (ПОЛ) [11]. В гемолизате эритроцитов определяли активность каталазы [12], глутатионредуктазы [13] и супероксиддисмутазы [14].

Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Как известно из литературы [15], одним из объектов деструктивного действия АФК являются липидные компоненты клеточных мембран. В результате действия АФК на остатки ненасыщенных жирных кислот осуществляются процессы перекисидации липидов, ведущие к образованию первичных, а затем и вторичных продуктов ПОЛ.

При изучении содержания общих липидов в мембранах эритроцитов больных острым пиелонефритом было выявлено достоверное снижение этого показателя: в 1,45 раза по сравнению с контрольной группой ( $4,0 \pm 0,18$  мг/мл – контрольная группа;  $2,76 \pm 0,12$  мг/мл – больные пиелонефритом).

Поскольку содержание общих липидов взаимосвязано с процессами их перекисного окисления, представляло интерес оценить состояние этих процессов в мембранах эритроцитов в условиях соответствующей патологии. В табл. 1 представлены данные, полученные при изучении количественного содержания первичных и вторичных (ТБК-активных) продуктов перекисного окисления липидов в мембранах эритроцитов практически здоровых людей и больных острым пиелонефритом. Из этих данных видно, что в мембранах эритроцитов больных острым пиелонефритом содержание первичных продуктов ПОЛ было в 7,2 раза выше по сравнению с контрольной группой. Содержание ТБК-активных продуктов превышало уровень контрольной группы в 3,6 раза. Из этих данных следует, что изменения в содержании первичных продуктов ПОЛ существенно превышают изменения в содержании вторичных продуктов перекисидации липидов, что может свидетельствовать о возможности реализации в эритроцитах некоторого «защитного» механизма, направленного на сдерживание более глубоких деструктивных процессов, ведущих к образованию на основе диеновых конъюгатов и гидроперекисей низкомолекулярных альдегидов и кетонов. Последние, как известно [15], могут принести организму гораздо больший вред, «атакуя» белковые молекулы и другие органические соединения.

**Таблица 1**  
**Содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов больных острым пиелонефритом ( $M \pm m$ )**

Обследованные группы	Первичные продукты ПОЛ, ед. отп. пл./мг липидов	ТБК-активные продукты ПОЛ, ед. отп. пл./мг липидов
Контрольная группа	0,18 ± 0,01	0,055 ± 0,007
Больные острым пиелонефритом	1,31 ± 0,09*	0,20 ± 0,01*

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

Одним из защитных механизмов, направленных на ограничение генерирования АФК и, следовательно, процессов пероксидации липидов, является система антиоксидантных ферментов. При изучении активности группы антиоксидантных ферментов (каталазы, глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы) были получены данные, представленные в табл. 2.

**Таблица 2**  
**Активность СОД, каталазы и глутатионредуктазы в гемолизате эритроцитов больных острым пиелонефритом ( $M \pm m$ )**

Обследованные группы	Активность СОД, мкмоль·мин. <sup>-1</sup> ·мгНв <sup>-1</sup>	Активность каталазы, ммоль·с <sup>-1</sup> ·л <sup>-1</sup>	Активность глутатионредуктазы, нмоль·мин. <sup>-1</sup> ·мл <sup>-1</sup>
Контрольная группа	13,5 ± 0,5	0,065 ± 0,006	0,580 ± 0,030
Больные острым пиелонефритом	20,3 ± 1,0*	0,098 ± 0,012*	0,360 ± 0,044*

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

Как показали результаты исследований, в гемолизате эритроцитов больных острым пиелонефритом достоверно изменяется активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионредуктазы. Активность СОД и каталазы в эритроцитах больных была в 1,5 раза выше по сравнению с контрольной группой, тогда как активность глутатионредуктазы снижалась – в 1,6 раза.

Повышение активности СОД и каталазы может иметь большое значение для эритроцитов в условиях окислительного стресса, связанного с генерированием АФК как радикальной, так и нерадикальной природы, в частности пероксида водорода. Снижение активности глутатионредуктазы, возможно, обусловлено более высокой

«чувствительностью» данного фермента к действию АФК либо вторичных продуктов ПОЛ. На основании представленных данных можно сделать предположение, что снижение активности глутатионредуктазы в определенной мере компенсируется повышением активности СОД и каталазы. Механизм этого адаптивно-компенсаторного процесса еще предстоит выяснить.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

1. В мембранах эритроцитов больных острым пиелонефритом активизируются процессы пероксидации липидов, о чем свидетельствует снижение содержания общих липидов и повышение уровня первичных и вторичных продуктов ПОЛ.
2. Показано более выраженное увеличение содержания в мембранах эритроцитов больных первичных продуктов ПОЛ по сравнению со вторичными продуктами.
3. В эритроцитах больных острым пиелонефритом изменяется состояние антиоксидантной системы: снижается активность глутатионредуктазы и возрастает активность каталазы и супероксиддисмутазы.

#### **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. 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.
5. Елкина Н. М. Липидный состав и пероксидация липидов в эритроцитах при железодефицитной анемии / Н. М. Елкина, С. В. Коношенко // Уч. записки Крымского федерального ун-та им. В. И. Вернадского. – 2015. – Т. 1 (67), № 1. – С. 25–29.
6. Елкина Н. М. Процессы пероксидации липидов и генерирования активных форм кислорода в эритроцитах больных кардиомиопатией / Н. М. Елкина, С. В. Коношенко // Уч. записки Крымского федерального ун-та им. В. И. Вернадского. – 2015. – Т. 1 (67), № 1. – С. 30–35.
7. Елкина Н. М. Состояние антиоксидантной системы в эритроцитах при отдельных гематологических и сердечно-сосудистых заболеваниях / Н. М. Елкина, С. В. Коношенко // Уч. записки Крымского федерального ун-та им. В. И. Вернадского. – 2015. – Т. 1 (67), № 3. – С. 14–20.
8. 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.
9. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. А. А. Покровского. – М.: Медицина, 1969. – С. 28–30.
10. Гаврилов В. Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гентановых и изопропанольных экстрактов / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Н. Ф. Хмара // Лаб. дело. – 1988, № 2. – С. 60–64.
11. 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.

12. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др. // Лаб. дело. – 1988, № 1. – С. 16–19.
13. Агабели Р. А. Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты / Р. А. Агабели. – Баку, 1989. – 120 с.
14. 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.
15. Дубинина Е. Е. Окислительная модификация белков: окисление триптофана и образование битирозина в очищенных белках с использованием системы Фентона / Е. Е. Дубинина, С. В. Гавровская, Е. В. Кузьмич и др. // Биохимия. – 2002. – Т. 67, вып. 3. – С. 413–421.

## PROCESSES OF LIPIDS PEROXIDATION AND ACTIVITY OF ANTIOXIDATIVE ENZYMES IN ERYTHROCYTES OF PATIENTS WITH ACUTE PIELONEPHREAT

*Konoshenko S. V., Dergaus I. N., Yolkina N. M., Krutikov E. S., Kazakova V. V.*

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia  
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 [1, 2]. Today we have much dates about that under some diseases erythrocytes are involved in pathological process as demonstrated by biochemical changes occurring in them [3, 4].

In this regard, it is interest to examine the state of processes of lipids peroxidation and antioxidative system in erythrocytes of patients with pielonephreat. The materials for the study were the erythrocytes of healthy subjects (control group) and patients with acute pielonephreat (20 persons, middle age 42,0 years). The blood of patients with diseases was taken before treatment for an illness.

The erythrocytes were hemolysated by distilled water. The membranes of erythrocytes were separated from hemolysate by centrifugation. In membranes of erythrocytes the content of total lipids [5] and lipids peroxidation products was determined [6, 7].

The activity of catalase [8], superoxidedismutase (SOD) [9] and glutation-reductase [10] was determined in hemolysates. All indexes were studied by spectrophotometric methods of biochemical analyses.

It has been shown, that in membranes of erythrocytes the level of total lipids is lowed: at 1,45 times as compared with control group; the level of primary and secondary products of lipids peroxidation is rised: at 7,2 and 3,6 times, accordingly.

At the same time, the activity of antioxidative enzymes is changed also. The activity of glutation-reductase was lowed at 1,6 times, activity of SOD and catalase was rised: at 1,5 times as compared with control group.

The obtained dates evidence about development of oxidative stress under acute pielonephreat and about mobilization of adaptative reactions in erythrocytes under this pathology.

**Keywords:** erythrocytes, lipids peroxidation, catalase, superoxidedismutase, glutation-reductase, acute pielonephreat.

### 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. 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).
4. 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).
5. Pocrovsky A. A., *Biochemical methods of investigations in clinical practice*, 250 (Mockow, 1969).
6. Gavrilov V. B., Gavrilova A. R., Chmara N. F., The taking of dienoves conjugates in blood plasma by UF-absorption of heptane and isopropanoles ecstractes, *Lab. delo*, **2**, 60 (1988).
7. Ohkawa H., Ohishi N., Yogi K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analit. Biochem*, **2**, 351 (1979).
8. Koroljuk M. A., Ivanova I. G., Tokorev V. E., Method of catalase determination, *Lab. delo*, **1**, 16 (1988).
9. 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).
10. Agabeli R. A., *Antioxidants and antioxidative enzymes*, 120 (Baku, 1989).