

**УДК 577.112:612**

## **ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ**

*Коношенко С. В.<sup>1</sup>, Каракурсакова З. В.<sup>1</sup>, Елкина Н. М.<sup>2</sup>, Крутиков С. Н.<sup>2</sup>,  
Казакова В. В.<sup>2</sup>, Загноенко Н. Е.<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 циррозе печени в мембранах эритроцитов интенсифицируются реакции перекиссации липидов, о чем свидетельствуют снижение количественного содержания общих липидов и повышение содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ.

Вместе с этим в эритроцитах изменяется активность антиоксидантных ферментов: снижается активность глутатионредуктазы и повышается активность каталазы и супероксиддисмутазы. Наиболее выраженные изменения проявляются в активности каталазы и глутатионредуктазы.

**Ключевые слова:** эритроциты, перекиссация липидов, каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза, цирроз печени.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Одной из актуальных проблем современной медицины и биологии является изучение биохимических изменений в организме человека при различных заболеваниях и патологических состояниях, сопровождающихся развитием окислительного стресса [1–3]. Известно, что окислительный стресс является следствием нарушения прооксидантно-оксидатного равновесия и чрезмерного генерирования активных форм кислорода (АФК) как радикальной, так и нерадикальной природы [4].

Мишенью действия АФК могут быть различные органические соединения, в частности липиды и протеины. По этой причине существенные деструктивные процессы осуществляются прежде всего на уровне клеточных мембран. Однако и другие внутриклеточные структурные образования могут быть «атакованы» АФК, претерпевая т. н. окислительную модификацию [4].

Вместе с этим накопилось достаточно большое количество данных, свидетельствующих о вовлечении эритроцитов в окислительный стресс при ряде заболеваний, об изменении их биохимического состояния в этих условиях [5–8], и представляется важным понять, какие из этих изменений имеют адаптивный характер и каким образом можно было бы использовать показатели

эритроцитарного метаболизма в качестве маркера для оценки степени тяжести патологии и прогнозирования дальнейшего течения болезни.

Одной из патологий, недостаточно изученных в этом аспекте, является цирроз печени. В связи с этим целью настоящей работы было изучение процессов перекисидации липидов и активности отдельных антиоксидантных ферментов в эритроцитах при циррозе печени.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (контрольная группа – 25 человек, средний возраст – 42,0 года) и больных циррозом печени (20 человек, средний возраст – 45,0 года). Кровь больных брали на базе ГБУЗ РК «Клиническая больница № 7» 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 [9]. Мембраны эритроцитов отделяли от гемолизата центрифугированием при 8000 об/мин. в течение 20 мин. В мембранах эритроцитов определяли содержание общих липидов [10], а также первичных [11] и вторичных [12] продуктов перекисидации липидов (ПОЛ). В гемолизате эритроцитов определяли активность каталазы [13], глутатионредуктазы [14] и супероксиддисмутазы [15].

Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Как отмечалось ранее, липидные компоненты клеточных мембран являются наиболее уязвимой мишенью для деструктивного действия АФК. Непосредственной мишенью для активных форм кислорода становятся ненасыщенные жирные кислоты, содержание которых в составе липидных фракций достаточно велико. Это и становится основной причиной осуществления процессов перекисного окисления липидов, ведущих к образованию первичных, а затем и вторичных продуктов ПОЛ.

При изучении содержания общих липидов в мембранах эритроцитов больных циррозом печени было выявлено достоверное снижение этого показателя: в 2,2 раза по сравнению с контрольной группой ( $4,0 \pm 0,18$  мг/мл – контрольная группа;  $1,8 \pm 0,09$  мг/мл – больные циррозом печени).

Поскольку содержание общих липидов взаимосвязано с процессами их перекисного окисления, представляло интерес оценить состояние этих процессов в мембранах эритроцитов при соответствующем заболевании.

При изучении содержания первичных и вторичных (ТБК-активных) продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов практически здоровых людей и больных циррозом печени были получены данные, представленные в табл. 1. Из этих данных видно, что в мембранах эритроцитов больных циррозом печени содержание первичных продуктов ПОЛ было в 5,3 и в 4,4 раза выше по сравнению с контрольной группой (при идентификации продуктов ПОЛ при 232 нм и 273 нм соответственно). Содержание ТБК-активных продуктов также превышало уровень контрольной

группы: в 2,4 раза (идентификация при 535 нм) и в 1,6 раза (идентификация при 560 нм). При данных длинах волн определялись альдегиды и кетоны соответственно.

Наряду с этим представляло интерес изучить активность антиоксидантных ферментов. В табл. 2 представлены данные, полученные при изучении активности каталазы, глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы (СОД) в гемолизате эритроцитов практически здоровых людей и больных циррозом печени.

**Таблица 1**  
**Содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов больных циррозом печени (M ± m)**

Обследованные группы	Первичные продукты ПОЛ, ед. опт. пл.		ТБК-активные продукты ПОЛ, ед. опт. пл.	
	232 нм	273 нм	535 нм	560 нм
Контрольная группа	0,315 ± 0,020	0,405 ± 0,03	0,120 ± 0,008	0,098 ± 0,005
Больные циррозом печени	1,674 ± 0,090*	1,770 ± 0,140*	0,290 ± 0,018*	0,154 ± 0,013*

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

**Таблица 2**  
**Активность СОД, каталазы и глутатионредуктазы в гемолизате эритроцитов больных циррозом печени (M ± 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 циррозом печени	35,8 ± 0,9	0,310 ± 0,026*	0,120 ± 0,010*

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

Как показали результаты исследований, в гемолизате эритроцитов больных циррозом печени достоверно изменяется активность изученных ферментов. Активность СОД в эритроцитах больных была в 2,7 раза выше по сравнению с контрольной группой, активность каталазы превышала уровень контрольной группы в 4,8 раза, тогда как активность глутатионредуктазы снижалась и была в среднем в 4,8 раза ниже уровня активности фермента в контрольной группе. Как известно [4], каталаза и глутатионредуктаза обеспечивают в клетках взаимосвязанные процессы, направленные на разрушение супероксиданиона и пероксида водорода. В связи с этим повышение активности СОД и каталазы в

эритроцитах больных циррозом печени может иметь большое адаптивное значение для эритроцитов в условиях окислительного стресса, связанного с генерированием АФК как радикальной, так и нерадикальной природы.

Снижение активности в эритроцитах больных глутатионредуктазы также представляет большой интерес, поскольку данный фермент играет важную роль в поддержании восстановительного потенциала клеток. Снижение активности глутатионредуктазы в эритроцитах больных циррозом печени может быть обусловлено более высокой «чувствительностью» данного фермента к деструктивному действию активных форм кислорода или вторичных продуктов ПОЛ.

Полученные данные позволяют сделать предположение, что снижение активности глутатионредуктазы в эритроцитах больных циррозом печени компенсируется повышением активности СОД и каталазы. Механизм этого адаптивно-компенсаторного процесса еще предстоит выяснить.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

1. В мембранах эритроцитов больных циррозом печени интенсифицируются реакции перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует снижение содержания общих липидов и повышение содержания 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 циррозом печени 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. 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.
5. 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.
6. Елкина Н. М. Липидный состав и перекисидация 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.

7. Елкина Н. М. Процессы перекисаации 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.
8. 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.
9. 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.
10. Биохимические методы исследования в клинике / Под. ред. А. А. Покровского. – М.: Медицина, 1969. – С. 28–30.
11. Гаврилов В. Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Н. Ф. Хмара // Лаб. дело. – 1988. – № 2. – С. 60–64.
12. 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.
13. 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.
14. Агабели Р. А. Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты / Р. А. Агабели. – Баку, 1989. – 120 с.
15. Доценко О. И. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышей в условиях низкочастотной вибрации / О. И. Доценко, В. А. Доценко, А. М. Мищенко // Физика живого. – 2010. – Т. 18, вып. 1. – С. 107–113.

## PROCESSES OF LIPIDS PEROXIDATION AND ACTIVITY OF ANTIOXIDATIVE ENZYMES IN ERYTHROCYTES OF PATIENTS WITH CIRRHOSIS OF LIVER

*Konoshenko S. V., Karakursakova Z. V., Yolkina N. M., Krutikov S. N., Kazakova V. V., Zagnoenko N. E.*

*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 data 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 cirrhosis of liver.

The materials for the study were the erythrocytes of patients with cirrhosis of liver (20 persons, middle age 45,0 years) and healthy subjects (control group). The blood of patients with diseases was taken before treatment for an illness.

The erythrocytes were hemolysed 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 of patients with disease the level of total lipids is lowed: at 2,2 times as compared with control group; the level of primary and secondary products of lipids peroxidation is rised: at 4,9 and 2,0 times in middle, accordingly.

At the same time, the activity of antioxidative enzymes is changed also. The activity of glutation-reductase was lowed at 4,8 times and the activity of catalase and SOD was rised: at 4,8 and 2,7 times, accordingly, as compared with control group.

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

**Keywords:** erythrocytes, lipids peroxidation, catalase, superoxidedismutase, glutation-reductase, cirrhosis of liver.

### 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).