

УДК 577.112:612

ПОКАЗАТЕЛИ ДЕСТРУКТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ АЛЛЕРГИИ

*Коношенко С.В.¹, Елкина Н.М.², Казакова В.В.², Загноенко Н.Е.², Кухарик О.Н.¹,
Мартоян М.М.¹*

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

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

Показано, что при обострении аллергических реакций в эритроцитах усиливается окислительная модификация протеинов и пероксидация липидов. В большей степени интенсификация деструктивных изменений протеинов осуществляется в цитозольной фракции эритроцитов.

В условиях соответствующего патологического состояния организма липидные компоненты как мембран, так и цитозоля эритроцитов в большей степени вовлекаются в деструктивные процессы по сравнению с эритроцитарными протеинами, что может быть существенным фактором, дестабилизирующим структурное и функциональное состояние эритроцитарной мембраны.

Ключевые слова: эритроциты, окислительная модификация протеинов, пероксидация липидов, аллергия.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из задач современной биологии и медицины является выяснение биохимических изменений в организме человека при различных заболеваниях, что может быть использовано в практической медицине, а также служить основой для более глубоких фундаментальных исследований [1–3]. В частности, представляется важным изучение тех молекулярных механизмов, которые в условиях патологии направлены на поддержание функционального состояния внутриклеточных систем и всего организма в целом. Важно также понять особенности тех изменений в организме, которые носят деструктивный характер и могут способствовать более глубокому развитию патологии.

Эритроциты представляют определенный интерес в этом аспекте, поскольку вовлекаются в патологический процесс, изменяя свое метаболическое состояние [2, 3]. Данные литературы свидетельствуют о том, что при ряде заболеваний в эритроцитах осуществляются деструктивные процессы, связанные, в частности, с изменением структуры липидов и белков [4, 5]. Незучеными в этом аспекте остаются метаболические особенности эритроцитов при обострении аллергических реакций.

В связи с этим, целью настоящей работы являлось изучение в эритроцитах больных с аллергией окислительной модификации протеинов и перекисного окисления липидов как показателей деструктивных процессов в организме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (контрольная группа; 25 человек, средний возраст 39,0 лет), а также больных с обострением аллергических реакций (крапивница) (11 человек, средний возраст 45,0 лет). Кровь больных брали на базе ГБУЗ РК «Клиническая больница № 7», г. Симферополь; при поступлении в стационар, перед началом лечения, придерживаясь норм и принципов биоэтики. Кровь практически здоровых людей брали на базе ГБУЗ РК «Центр крови», г. Симферополь.

Гемолизат и мембраны эритроцитов получали, используя описанные в литературе методы [6]. В мембранах и гемолизате эритроцитов определяли продукты окислительной модификации протеинов [7], регистрируя альдегидные и кетонные продукты основной и нейтральной природы спектрофотометрически при 356 нм, 370 нм, 430 нм и 530 нм. Содержание общих липидов [8], первичных [9] и вторичных продуктов пероксидации липидов (ПОЛ) [10] определяли, используя спектрофотометрические методы количественного анализа.

Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты исследований, в эритроцитах больных с обострением аллергических реакций наблюдается интенсификация окислительной модификации протеинов, что прослеживается как в мембранах, так и в гемолизате (табл. 1, 2). Так, в мембранах эритроцитов отмечено достоверное увеличение содержания кетонных продуктов нейтрального характера, регистрируемых при 370 нм (в 1,44 раза по сравнению с контрольной группой), и показана тенденция к увеличению содержания альдегидных продуктов нейтрального и основного характера, регистрируемых при 356 нм и 430 нм.

Таблица 1
Содержание продуктов окислительной модификации протеинов в мембранах эритроцитов больных с аллергией ($M \pm m$)

Обследованные группы	Продукты нейтрального характера, ед.опт.пл.		Продукты основного характера, ед.опт.пл.	
	Альдегидные 356 нм	Кетонные 370 нм	Альдегидные 430 нм	Кетонные 530 нм
Контрольная группа	0,220 ± 0,020	0,222 ± 0,020	0,206 ± 0,015	0,151 ± 0,012
Больные	0,259 ± 0,032	0,319 ± 0,030*	0,247 ± 0,030	0,133 ± 0,012

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

Таблица 2

Содержание продуктов окислительной модификации протеинов в гемолизате эритроцитов больных с аллергией ($M \pm m$)

Обследованные группы	Продукты нейтрального характера, ед.опт.пл.		Продукты основного характера, ед.опт.пл.	
	Альдегидные 356 нм	Кетонные 370 нм	Альдегидные 430 нм	Кетонные 530 нм
Контрольная группа	1,373 ± 0,114	1,574 ± 0,180	1,408 ± 0,060	0,347 ± 0,018
Больные	1,80 ± 0,21*	1,805 ± 0,100	1,752 ± 0,151*	0,437 ± 0,030*

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

В гемолизате эритроцитов наблюдается более выраженное увеличение содержания продуктов окислительной модификации протеинов. Содержание альдегидных продуктов нейтрального и основного характера возрастало в 1,3 и в 1,24 раза, соответственно; содержание кетонных продуктов основного характера увеличивалось в 1,26 раза по сравнению с контрольной группой.

Как известно из литературы, процессы окислительной модификации протеинов осуществляются, главным образом, под действием активных форм кислорода радикальной природы (АФК) [7]. В условиях усиленного генерирования АФК и нарушения прооксидантно-антиоксидантного равновесия процессы окислительной модификации протеинов начинают превышать определенный базовый уровень.

Из полученных данных следует, что мембранные протеины эритроцитов в меньшей степени подвержены действию активных форм кислорода по сравнению с белками, находящимися в цитозоле. Возможно, это обусловлено относительно жесткой фиксацией белков мембраны, а также белков эритроцитарного цитоскелета за счет их взаимодействия с гидрофобными и полярными структурными элементами липидного бислоя мембраны, что и обеспечивает более высокую стабильность молекул этих протеинов.

В условиях повышенного генерирования АФК усиливаются также процессы перекисного окисления липидов [3].

При изучении содержания общих липидов в мембранах и гемолизате эритроцитов практически здоровых людей и больных с обострением аллергических реакций были получены данные, представленные в табл. 3. Показано, что у больных с обострением аллергических реакций по сравнению с контрольной группой, содержание общих липидов было ниже: в 1,5 раза в мембранах и в 1,85 раза в гемолизате эритроцитов. Снижение содержания общих липидов в эритроцитах больных сопровождалось существенным увеличением уровня первичных и вторичных (ТБК-активных) продуктов пероксидации липидов. Так, в мембранах эритроцитов больных содержание первичных продуктов ПОЛ возрастало в 9,6 раза, а в гемолизате – в 8,7 раза по сравнению с контрольной группой (табл. 4).

Содержание ТБК-активных продуктов ПОЛ увеличивалось в 8,3 раза в мембранах и в 12,5 раза в гемолизате эритроцитов больных по сравнению с контрольной группой (табл. 5). Из этих данных видно, что деструктивные процессы, связанные с липидными компонентами эритроцитов, достаточно активно осуществляются как в мембранах, так и в гемолизате эритроцитов больных.

Таблица 3
Содержание общих липидов в мембранах и гемолизате эритроцитов больных с аллергией (M ± m)

Обследованные группы	Общие липиды, мг/мл	
	Мембраны	Гемолизат
Контрольная группа	1,09 ± 0,15	1,57 ± 0,19
Больные	0,72 ± 0,1*	0,85 ± 0,05*

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

Таблица 4
Содержание первичных продуктов пероксидации липидов в мембранах и гемолизате эритроцитов больных с аллергией (M ± m)

Обследованные группы	Первичные продукты ПОЛ, ед.опт.пл./мг липидов	
	Мембраны	Гемолизат
Контрольная группа	0,30 ± 0,02	0,33 ± 0,02
Больные	2,89 ± 0,36*	2,86 ± 0,10*

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

Таблица 5
Содержание вторичных (ТБК-активных) продуктов пероксидации липидов в мембранах и гемолизате эритроцитов больных с аллергией (M ± m)

Обследованные группы	ТБК-активные продукты ПОЛ, ед.опт.пл./мг липидов	
	Мембраны	Гемолизат
Контрольная группа	0,19 ± 0,05	0,043 ± 0,003
Больные	1,57 ± 0,28*	0,54 ± 0,06*

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

В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что при обострении аллергических реакций интенсифицируются процессы окислительной модификации протеинов и перекисного окисления липидов в эритроцитах, что имеет деструктивный характер и может быть связано с усиленным генерированием АФК. Из полученных результатов также видно, что по сравнению с белками липидные компоненты эритроцитов являются более уязвимой мишенью для действия активных форм кислорода, и это может быть существенным обстоятельством, при котором усиливается дестабилизация структурного и функционального состояния эритроцитарной мембраны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований позволяют сделать следующие выводы:

1. При обострении аллергических реакций в эритроцитах усиливается окислительная модификация протеинов, что прослеживается как в мембранах, так и в гемолизате. В большей степени интенсификация этих процессов осуществляется в цитозольной фракции эритроцитов.
2. В условиях соответствующего патологического состояния организма в эритроцитах усиливается перекисное окисление липидов, о чем свидетельствует снижение уровня общих липидов и существенное увеличение содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ в мембранах и гемолизате эритроцитов.
3. Липидные компоненты эритроцитов в большей степени подвержены деструктивным изменениям по сравнению с эритроцитарными протеинами.

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. Елкина Н.М. Состояние антиоксидантной системы в эритроцитах при отдельных гематологических и сердечно-сосудистых заболеваниях / Н.М. Елкина, С.В. Коношенко // Уч. записки Таврического нац. ун-та им. В.И. Вернадского. Сер.: Биология, химия. – 2015. – Т. 1 (67), № 3. – С. 14–20.
3. 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, № 12. – P. 117–121.
4. Елкина Н.М. Процессы перекисидации 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 окислювальної 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. 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.
7. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов и др. // Вопросы мед. химии. – 1996. – Т. 41, № 1. – С. 24–26.

8. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. А.А. Покровского. – М.: Медицина, 1969. – С. 28–30.
9. Гаврилов В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гетановых и изопропанольных экстрактов / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Н.Ф. Хмара // Лаб. дело. – 1988, № 2. – С. 60–64.
10. Ohkawa H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yogi // Analit. Biochem. – 1979, № 2. – P. 351–358.

INDEXES OF DESTRUCTIVE PROCESSES IN ERYTHROCYTES UNDER ALLERGY

***Konoshenko S.V., Yolkina N.M., Kazakova V.V., Zagnoenko N.E., Kucharik O.N.,
Martojan M.M.***

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: nataleiolkina@gmail.com*

Today we have much dates about that under some diseases erythrocytes are involved in pathological process as demonstrated by biochemical changes occurring in them [1–3]. It is known, that under some diseases the production of oxygen active forms is more active and it is cause for activation of oxidative destruction of lipids and proteins [4, 5]. In this regard, it is interest to examine the processes of oxidative modification of proteins and lipids peroxidation in erythrocytes under allergy.

The materials for the study were the erythrocytes of healthy subjects (control group) and patients with allergy (healthy subjects: 25 persons, middle age 39,0 years; patients with allergy: 11 persons, middle age 45,0 years). The blood of patients with allergy 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 and hemolysate of erythrocytes the contents of proteins oxidative modification products [6], total lipids and lipids peroxidation products [7, 8] were determined. All indexes were studied by spectrophotometric methods of biochemical analyses.

It has been shown, that in hemolysates and membranes of erythrocytes of patients the content of proteins oxidative modification products was rised as compared with control group: at 1,44 times in membranes and at 1,26 time in hemolysates of erythrocytes.

The activation of processes of lipids peroxidation has been shown also. So, level of total lipids in membranes and hemolysates was lowed: at 1,5 times and at 1,85 time, accordingly.

At the same time, the content of primary and secondary products of lipids peroxidation was rised.

The content of primary products of lipids peroxidation was rised at 9,6 times in membranes and at 8,7 times – in hemolysates of erythrocytes. The content of secondary products of lipids peroxidation was rised at 8,3 times in membranes and at 12,5 times – in hemolysates as compared with control group.

These data evidence about that under allergy the processes of lipids and proteins destruction in erythrocytes are intensified. The oxidative modification of proteins in hemolysates are more intensive as compared with membranes of erythrocytes.

The destructive processes in erythrocytes under allergy may be cause for breaking of structure and function of membrane and different organic components in erythrocytes.

Keywords: erythrocytes, oxidative modification of proteins, lipids peroxidation, allergy.

References

1. Azizova O.A., Korsakov S.S. Connection of oxidative stress markers with clinical properties of chronic ischemic of brain, *J. of neurology and psychiatry*, **9**, 21 (2013).
2. Yolkina N.M., Konoshenko S.V., Peculiarities of antioxidative system in erythrocytes under some hematological and heart-vascular diseases, *Sc. notes of V.I. Vernadsky Taurida university, Biology and Chemistry*, **1 (67), 3**, 14 (2015).
3. Novgorodtseva T.P., Denisenko Y.K., Zhukova N.N. et al, Modifications of fatty acids composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases, *Lipids Health Dis.*, **12**, 117 (2013).
4. Yolkina N.M., Processes of lipids peroxidation, methemoglobinemia and oxygen active forms generation in erythrocytes of patients with erythraemia, *Sc. notes of V.I. Vernadsky Taurida university, Biology and Chemistry*, **20 (65), 4**, 39 (2013).
5. 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).
6. Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Hodov D.A. et al, Oxidative modification of proteins in human serum of blood, method of determination, *Vopr. Med. Chem.*, **41, 1**, 24 (1996).
7. Gavrilov V.B., Gavrilova A.R., Chmara N.F., The measuring of dien conjugates in blood plasma by UF-absorption of heptane and isopropanoles extractions, *Lab. delo*, **2**, 60 (1988).
8. Ohkawa H., Yogi K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analit. Biochem*, **2**, 351 (1979).