

УДК 577.115.3:391.111.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ ИНИЦИАЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ IN VITRO И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Ераносян К. В., Коношенко С. В.

ВВЕДЕНИЕ

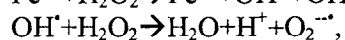
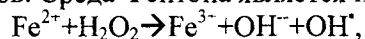
В настоящее время большое значение приобретает изучение биохимических процессов при различных состояниях организма. Широкое распространение получают исследования процессов биологического окисления, соотношения и взаимодействия окислительных и восстановительных процессов как важнейшего компонента гомеостаза [1,3,6].

Открытие феномена свободнорадикального окисления (СРО), сопровождающегося образованием активных форм кислорода (перекиси водорода, альдегидов, кетонов, окислительных радикалов, гидропероксидов), а также характеристика липидов, особенно ненасыщенных жирных кислот, как наиболее адекватного субстрата для разветвления реакций СРО и липидного бислоя мембран как основной биологической мишени для атаки окислительных радикалов и пероксидов дало возможность для более глубокого изучения процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1,3,6].

Представляло интерес проследить изменения процессов ПОЛ в эритроцитах в динамике в условиях инициации окислительных процессов in vitro, а также в условиях организма при патологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служила кровь 15 больных хроническим гломерулонефритом (ХрГН) в возрасте 30-45 лет. Контрольную группу составили 30 практически здоровых людей - доноров. Гемолизат эритроцитов получали по методу Дробкина [8]. Эритроцитарные мембраны (ЭМ) выделяли по методу Сербиновой Т.А. [7]. Содержание общих липидов в ЭМ и в гемолизате определяли колориметрическим методом, используемым в клинической практике [2]. Содержание гидроперекисей определяли по методу Гаврилова В.Б. и Мишкорудной М.И. [4]. Содержание ТБК-активных продуктов определяли тиобарбитуровым методом по Ohkava H., Ohishi N., Yagi K. [9]. Инициацию окислительных процессов в эритроцитах осуществляли, используя среду Фентона (перекись водорода, сернокислое железо) [5], инкубируя эритроциты в этих условиях в течение 1, 2 и 24 часов. Среда Фентона является источником активных форм кислорода:



образование которых имеет циклический характер.

**ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ЭРИТРОЦИТАХ
ПРИ ИНИЦИАЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ IN VITRO
И ПРИ ПАТОЛОГИИ**

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении динамики реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эритроцитах доноров в условиях инкубации эритроцитарных клеток в среде Фентона в течение 1, 2 и 24 часов были получены данные, представленные в таблице 1. Показано, что содержание гидроперекисей (первичных продуктов ПОЛ) как в мембранах, так и в гемолизате эритроцитов закономерно возрастает по мере развития окислительных процессов. Так, если в исходном состоянии (до инкубации в среде Фентона) содержание гидроперекисей в эритроцитарных мембранах доноров составляло $0,185 \pm 0,002$ усл.ед./мг липидов, то через 1 час инкубации уровень гидроперекисей увеличивался в 1,8 раза, через 2 часа – в 3,8 раза, а через 24 часа – в 14,5 раза.

В гемолизате эритроцитов содержание гидроперекисей увеличивалось в 2,2 раза через 1 час инкубации, в 3,3 раза – через 2 часа и в 6,8 раза – через 24 часа инкубации в среде Фентона. Проявляется значительное преобладание уровня первичных продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов по сравнению с гемолизатом, что отмечается как в исходном состоянии, так и в условиях инициации окислительных процессов.

Отмечается также закономерный рост уровня вторичных (ТБК-активных) продуктов ПОЛ. Так, если через 1 час инкубации эритроцитов доноров в среде Фентона содержание ТБК-активных продуктов в мембранах эритроцитов возрастало в 1,36 раза по сравнению с исходным показателем, то через 2 часа – в 2,97 раза, а через 24 часа – в 9,4 раза. В гемолизате эритроцитов через 1 час инкубации содержание вторичных продуктов ПОЛ увеличивалось в 1,3 раза, через 2 часа – в 1,7 раза, а через 24 часа – в 5,36 раза.

В отличие от гидроперекисей проявляется более высокое содержание ТБК-активных продуктов в гемолизате эритроцитов по сравнению с эритроцитарной мембраной.

Интенсификация перекисного окисления липидов в условиях *in vitro* сопровождается снижением содержания общих липидов в мембранах и в гемолизате эритроцитов (табл. 1). При этом, более выраженная динамика снижения уровня липидов прослеживается в мембранах эритроцитов, что очевидно связано с их большей атакуемостью активными формами кислорода и может быть обусловлено как преобладающим содержанием в составе мембран полиненасыщенных жирных кислот, так и непосредственным контактом эритроцитарной мембраны с компонентами среды Фентона.

При изучении процессов ПОЛ в эритроцитах больных хроническим гломерулонефритом было установлено, что при данной патологии в мембранах и в гемолизате эритроцитов также снижается уровень общих липидов и повышается содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ.

Однако изменения этих показателей при патологии имеют свои особенности. Так, если в контрольной группе доноров содержание общих липидов в мембранах эритроцитов составляло $1,258 \pm 0,008$ мг/мл, а в гемолизате – $2,35 \pm 0,028$ мг/мл, то у больных эти показатели составляли $0,913 \pm 0,006$ мг/мл и $1,764 \pm 0,033$ мг/мл, соответственно. Из этого следует, что снижение уровня общих липидов в

эритроцитах больных является, в целом, незначительным по сравнению с теми изменениями, которые отмечены в условиях инициации окислительных процессов *in vitro* (табл. 1).

Таблица 1.

Содержание общих липидов и продуктов их перекисного окисления в эритроцитах в условиях инициации окислительных процессов *in vitro* и у больных ХрГН ($M \pm m$)

Обследуемые группы	Эритроцитарные мембраны	Гемолизат
Гидроперекиси, усл.ед./мг липидов		
Доноры:	0,185±0,002	0,092±0,0013
1 час инициации	0,332±0,007*	0,203±0,003*
2 часа инициации	0,707±0,008***	0,306±0,01***
24 часа инициации	2,690±0,048****	0,563±0,017****
Больные ХрГН	2,765±0,019*****	1,642±0,03*****
Общие липиды, мг/мл		
Доноры:	1,258±0,008	2,35±0,028
1 час инициации	0,438±0,007*	2,020±0,02*
2 часа инициации	0,284±0,008***	1,620±0,015***
24 часа инициации	0,183±0,004****	0,553±0,019****
Больные ХрГН	0,913±0,006*****	1,764±0,033*****
ТБК-активные продукты, усл.ед./мг липидов		
Доноры:	0,059±0,001	0,162±0,003
1 час инициации	0,080±0,0027*	0,213±0,002*
2 часа инициации	0,175±0,004***	0,273±0,003***
24 часа инициации	0,554±0,014****	0,869±0,013****
Больные ХрГН	0,065±0,0015*****	0,202±0,0044*****

Примечание:

- *- достоверность различий показателей при инициации окислительных процессов по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$);
- ** - достоверность различий показателей при инициации окислительных процессов в течение 1 и 2 часов ($p < 0,05$);
- *** - достоверность различий показателей при инициации окислительных процессов в течение 2 и 24 часов ($p < 0,05$);
- **** - достоверность различий показателей при инициации окислительных процессов в течение 24 часов по сравнению с показателями у больных ХрГН ($p < 0,05$).

На основании этих данных можно предположить, что при патологии запускаются определенные компенсаторные механизмы, направленные на

**ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ЭРИТРОЦИТАХ
ПРИ ИНИЦИАЦИИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ IN VITRO
И ПРИ ПАТОЛОГИИ**

сохранение липидного бислоя мембран, на поддержание их структурно-функционального статуса.

Вместе с этим, при хроническом гломерулонефрите в эритроцитах интенсифицируются реакции ПОЛ, о чем свидетельствует повышение уровня гидроперекисей как в гемолизате, так и в мембранах эритроцитов.

Обращает на себя внимание преобладание уровня гидроперекисей в эритроцитах больных по сравнению с теми показателями, которые были получены в условиях *in vitro*. Однако увеличение уровня вторичных продуктов ПОЛ в эритроцитах больных по сравнению с контрольной группой доноров было незначительным, особенно в мембранах эритроцитов.

Учитывая эти данные и то обстоятельство, что в условиях инициации окислительных процессов *in vitro* в мембранах эритроцитов проявляется преобладание количества гидроперекисей по сравнению с ТБК-активными продуктами, можно предположить, что в составе эритроцитарной мембраны имеется фактор, способный сдерживать превращение первичных продуктов ПОЛ во вторичные. Возможно, этот фактор попадает в эритроцитарную мембрану из плазмы крови и его содержание поддерживается на определенном уровне.

Полученные данные также свидетельствуют о том, что у больных ХрГН в условиях активизации перекисных процессов срабатывают компенсаторные (антиокислительные) механизмы, позволяющие в определенной мере поддерживать прооксидантно-антиоксидантное равновесие в липидных структурах мембран эритроцитов и защищать эти клетки от токсического действия активных форм кислорода, предотвращать образование последних.

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

1. При инициации окислительных процессов *in vitro* усиливается перекисное окисление липидов в мембране и гемолизате эритроцитов доноров. В этих условиях прослеживается значительно более активное образование первичных продуктов ПОЛ в эритроцитарной мембране, а ТБК-активных продуктов – в гемолизате эритроцитов.

2. У больных хроническим гломерулонефритом проявляется действие компенсаторных механизмов, направленных на сохранение уровня липидов в эритроцитарных мембранах и на сдерживание превращения в них первичных продуктов ПОЛ во вторичные.

Список литературы

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / под ред. Ю.А.Зозули, Киев, 1997.-С.13-87
2. Биохимические методы исследования в клинике / под ред. А.А.Покровского.- М.: медицина, 1969.-652 с.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972.-239 с.
4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение гидроперекисей в плазме крови // Лаб. Дело.- 1983.-№3.-С.34-37.

5. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Порогов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопросы медицинской химии.-1995.-Т.41, вып.1.-С.24-26.
6. Липиды в организме животных и человека // под ред. С.В.Северина.-М.: наука, 1974.-148с.
7. Сербинова Т.А. Получение свободной от гемоглобина мембраны эритроцитов и изменение ее структуры при повреждающих воздействиях и хранении консервируемой крови: Автореф. дисс... канд. мед. наук. - М., 1980.-С.19.
8. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization of hemoglobin in the enistolliene // Ann.N.I.Acad.Sci.-1964.-Vol. 121, N 11.- P.404-407.
9. Ohkava H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Analit.Biochem.-1979.-N 12.-P.351-358.

Поступила в редакцию 12.12.2003 г.