

КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995
УДК 616.155.392-07:616.155.1-008.931

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ЭРИТРОЦИТОВ В КАЧЕСТВЕ ИНДИКАТОРОВ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ТЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

А.О.КУМЕРОВА, В.И.ПЕТУХОВ, А.П.ШКЕСТЕРС, А.А.СИЛОВА, А.Г.ЛЕЦЕ

Латвийская медицинская академия, Рига

Исследованию были подвергнуты кровь и эритроциты 155 лиц, из них 50 были практически здоровы и 105 — больны гемобластозами. В период обострения обследованы 54 больных и на этапе ремиссии — 51. Обнаружены существенные изменения активности антиоксидантных ферментов СОД, КАТ, ГП, которые сопоставимы с содержанием МДА и со степенью выраженности анемии. Период обострения характеризуется более глубокими изменениями антиоксидантной защиты: разнонаправленностью изменения активности СОД и КАТ, значительным ингибированием ГП, повышенной концентрацией МДА и более выраженной анемией.

В последние десятилетия установлена связь между многими заболеваниями и процессом свободнорадикального окисления, в котором существенную роль играют активные формы кислорода (АФК) [1]. АФК образуют активированные нейтрофилы, они возникают при фагоцитозе, метаболизме лейкотриенов, функционировании антиоксидантных ферментов и др. В эритроцитах АФК ($O_2^{\cdot-}$ -супероксиданион-радикал и H_2O_2 -гидроперекись водорода) образуются при окислении гемоглобина в метгемоглобин, их источником являются также гемихромы. В реакциях Габер-Вайса и Фентона образуется гидроксильный радикал-ОН \cdot , который является особенно реакционноспособным при повреждении клеточных мембран [2]. В связи с тем, что эритроциты функционируют в среде с высокой концентрацией АФК, они обладают мощной антиоксидантной системой. В эту систему входят вещества с антиоксидантными свойствами, например, витамин Е, аскорбиновая кислота, пул глутатионов и антиоксидантные ферменты — супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), глутатионпероксидаза (ГП) [2]. Для изучения роли и взаимосвязи антиоксидантных ферментов в патологии активность антиоксидантных ферментов сопоставляется с показателями, характеризующими процесс перекисного окисления липидов, например, концентрацией малонового диальдегида (МДА) [3]. Проблеме гемобластозов в литературе посвящены лишь немногочисленные сообщения [4,5], в том числе опубликованы результаты, полученные нами ранее [6]. Практически нет данных об изменении активности антиоксидантных ферментов при обострении болезни и в стадии ремиссии.

Целью данного исследования явилось комплексное изучение активности основных антиоксидантных ферментов наряду с показателями МДА и степенью выраженности анемии у больных гемобластозами в период обострения и в стадии ремиссии и выяснение возможности использования изменений активности антиоксидантных ферментов в качестве индикаторов, характеризующих течение болезни.

Методика. Исследованию были подвергнуты кровь и эритроциты 155 лиц, из них 50 были практически здоровы и 105 — больны гемобластозами. В период обострения болезни обследовано 54 больных и на этапе ремиссии — 51. У 34 больных был диагностирован хронический лимфолейкоз (ХЛЛ), у 29 — хронический миелолейкоз (ХМЛ), у 16 — лимфома; у 15 — миелома и у 11 — лимфогранулематоз (ЛГР). Средний возраст больных 55 ± 12 лет (от 37 до 65 лет). У всех больных в эритроцитах определяли активность СОД, КАТ, ГП и концентрацию МДА общепринятыми методами [3, 7, 8, 9]. Также исследовали концентрацию гемоглобина в крови гемоглобинцианидным методом. В работе использованы следующие реактивы: феназинметасульфат, нитротетразолий синий, НАДН, ЭДТА, трис-НCl, восстановленный глутатион, тиобарбитуровая кислота (фирма "Serza"), СОД, КАТ (фирма "Fluka").

Статистическая обработка полученных результатов проведена с применением t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Результаты, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что у больных в период обострения при ХЛЛ, лимфоме и ЛГР активность СОД понижена на 31,5, 18,9 и 18,6% соответственно. При ХМЛ активность СОД имеет тенденцию к повышению, а при миеломе не меняется. По данным [10], у обследованных 102 больных лейкозами в бластной фазе активность СОД понижена и положительно коррелирует с содержанием гемоглобина, что согласуется с нашими данными. Так, при ХЛЛ более выраженное снижение активности СОД сопровождается и более выраженной анемией (рис. 1). В период ремиссии активность СОД восстанавливается, причем при ХМЛ, лимфоме и ЛГР превышает показатели у практически здоровых лиц. Повышение активности СОД многими авторами рассматривается как фактор, увеличивающий общую антиоксидантную защиту клетки и препятствующий развитию патологического процесса [10,11]. В литературе имеются данные об использовании экзогенной СОД, связанной с полимерами или в липосомах, в клинике при ослаблении антиоксидантной защиты организма [12,13]. В основе защитного действия интерлейкина-1 против радиации также лежит способность этого препарата усиливать синтез СОД в клетке [14]. Так как СОД дисмутирует супероксидные радикалы до H_2O_2 , повышение ее активности связано с увеличением концентрации перекиси водорода. В этих условиях возрастает роль КАТ, которая разлагает перекись водорода нерадикальным способом. Подтверждением этому является работа [15], в которой сообщается о глав-

Изменение активности ферментов и концентрации МДА в эритроцитах у больных гемобластозами в период обострения и на этапе ремиссии ($M \pm m$)

Диагноз	n_1	n_2	СОД, усл.ед./г Нб		КАТ, У.мин-г Нб		МДА, нмоль/г Нб	
			обострение	ремиссия	обострение	ремиссия	обострение	ремиссия
ХЛЛ	18	16	22,74 \pm 3,04*	30,42 \pm 2,95	265,4 \pm 38,15	411,0 \pm 61,6	180,0 \pm 22,0*	144,0 \pm 5,12*
ХМЛ	15	14	36,80 \pm 3,37	38,07 \pm 3,05	248,8 \pm 45,20	230,2 \pm 66,5	179,0 \pm 22,0	141,9 \pm 6,20
Лимфома	7	9	26,94 \pm 2,86	39,15 \pm 3,90	295,2 \pm 55,50	302,8 \pm 86,8	120,0 \pm 21,0	156,1 \pm 10,8
Миелома	7	8	32,30 \pm 4,64	30,07 \pm 3,35	854,3 \pm 240,2*	361,3 \pm 86,8	222,0 \pm 16,0*	137,5 \pm 9,5
ЛГР	7	4	27,03 \pm 2,61	38,24 \pm 11,7	541,0 \pm 190,7*	458,5 \pm 92,0	110,0 \pm 27,0	148,5 \pm 12,9
Доноры (контроль)	$n=50$		33,22 \pm 0,63		309,7 \pm 21,8		126,7 \pm 3,0	

Примечание. Звездочка — различия достоверны ($P < 0,05$) по сравнению с показателями у доноров. n_1 — число больных в период обострения, n_2 — число больных на этапе ремиссии.

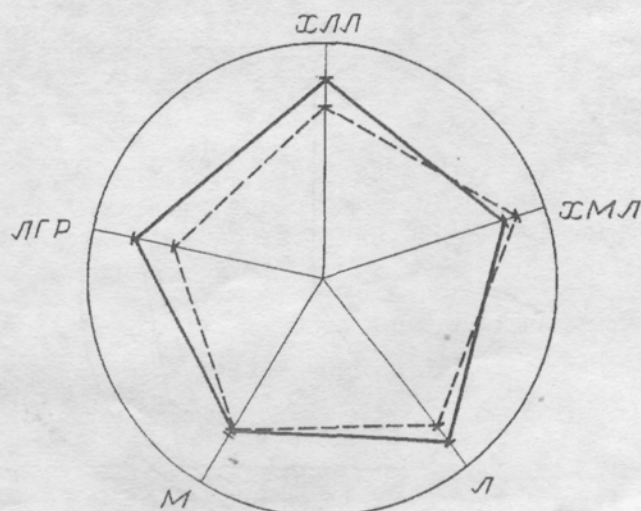


Рис. 1. Концентрация гемоглобина в крови у больных гемобластозами в период обострения и на этапе ремиссии. Концентрация гемоглобина выражена в % от нормальных величин, принятых за 100%, что соответствует радиусу окружности. Здесь и на рис. 2 сплошная линия — период обострения; пунктирная — этап ремиссии. Л — лимфома, М — миелома.

ной роли КАТ в защите эритроцитов от повреждающего действия H_2O_2 . Наши данные по исследованию активности КАТ весьма интересны. В период обострения активность КАТ достоверно повышена при миеломе и ЛГР-на 176 и 74,6% соответственно, несмотря на подавление активности СОД у этих больных. При ХЛЛ, ХМЛ и лимфоме активность КАТ снижена. У всех больных выявлена анемия. Уменьшение активности КАТ в эритроцитах у больных гемобластозами установлено также при лимфоме [16]. При обследовании больных на этапе ремиссии при ХЛЛ и ЛГР выявлено повышение активности КАТ на 32,7 и 48% соответственно, что сопровождалось уменьшением степени анемии. Так, при ХЛЛ концентрация гемоглобина в крови увеличивается от 10,87 до 12,15%, а при ЛГР — от 9,54 до 11,38%. Согласно данным литературы, экзогенная КАТ, вводимая животным, усиливает синтез других антиоксидантных ферментов, что в целом дает протекторный эффект при окислительном стрессе [12].

Антиоксидантным ферментом, который наряду с перекисью водорода разлагает также органические перекиси липидов и таким образом защищает эритроциты от окислительного повреждения, является ГП [15]. По полученным данным (рис. 2), активность ГП в период обострения и на этапе ремиссии снижена, причем в период обострения снижение активности ГП в эритроцитах больных более выражено. Так, активность ГП в период обострения и на этапе ремиссии снижена при ХЛЛ на 29,6 и 14%, при лимфоме на 24,9 и 14,5%, при миеломе на 37,0 и 14,3% соответственно. Уменьшение активности ГП зафиксировано при лимфопролиферативных заболеваниях [17] и в опухолевых клетках [18]. Известно, что ГП является селензависимым ферментом и, как показали экспериментальные исследования, у селендефицитных животных активность ГП также снижена [19]. В опухолевых эритроцитах содержание селена в 4 раза меньше, чем в норме [20]. Можно предположить, что одной из причин понижения активности ГП является дефицит селена. Полученные результаты свидетельствуют о том, что, во-первых, обострение болезни сопровождается понижением активности ГП, во-вторых, повышение активности ГП сопровождается уменьшением выраженности анемии на этапе ремиссии.

Результаты данного исследования свидетельствуют о значительных изменениях активности антиоксидантных ферментов СОД, КАТ, ГП в эритроцитах у больных гемобластозами как в период обострения, так и на этапе ремиссии. В предыдущих экспериментах нами было доказано, что в эритроцитах больных гемобластозами содержание МДА увеличено по сравнению с таковым у практически здоровых людей [9], что подтвердилось в данном исследовании. При сравнении обеих групп больных видно, что эритроциты больных в период обострения характеризуются более высокой концентрацией МДА (см. таблицу).

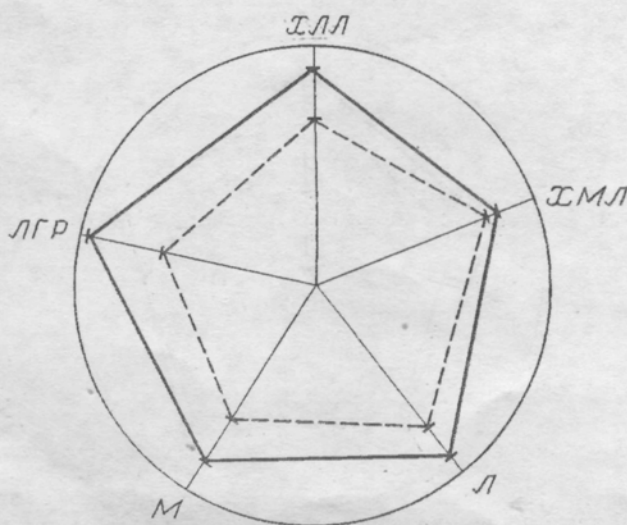


Рис. 2. Активность ГП в эритроцитах у больных гемобластозами в период обострения и на этапе ремиссии. Активность ГП выражена в % от нормальных величин, принятых за 100%, что соответствует радиусу окружности.

Таким образом, обнаружены существенные изменения активности антиоксидантных ферментов у больных гемобластозами, которые сопоставимы с содержанием МДА и со степенью выраженности анемии. При этом период обострения по сравнению с этапом ремиссии характеризуется более глубокими нарушениями антиоксидантной защиты клетки: разнонаправленностью изменений активности СОД и КАТ, значительным ингибированием ГП, повышенной концентрацией МДА и более выраженной анемией. Таким образом, доказана возможность использования активности антиоксидантных ферментов в качестве индикаторов, характеризующих течение болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gutteridge J.M.C. // Free Radic. Res. Commun. — 1993. — Vol. 19. — P.141—158.
2. Сметанина Н.С., Ковригина Е.С. и др. // Гематол. и трансфузиол. — 1991. — N2. — С. 30—41.
3. Гончаренко М.С., Латинова А.М. // Лаб. дело. — 1985. — N1. — С. 60.
4. Баскович Г.А., Тхоржевская З.С. и др. // Гематол. и трансфузиол. — 1993. — N3. — С. 13—16.
5. Bewick M., Coutie W. et al. // Brit. J. Haematol. — 1987. — Vol. 65. — P. 347—360.
6. Петухов В.И., Янсонс Э. и др. // Тер. арх. — 1992. — N7. — С. 25—29.
7. Власова С.Н., Шабунина Е.И. и др. // Лаб. дело. — 1990. — N8. — С. 19—21.
8. Королюк М.А. // Лаб. дело. — 1988. — N1. — С. 16—18.
9. Fried R. // Biochemie. — 1975. — Vol. 57. — P. 657—660.
10. Zhu C.S., Zhang C.Y. et al. // Chung Hua Chung Liu Tsa Chih. — 1994. — Vol. 16, N1. — P. 7—16.
11. Карагезян К.Г., Каранетян Э.Т. // Вопр. мед. химии. — 1989. — N4. — С. 11—12.
12. Bernard M.L., Baker R.R. et al. // Amer. J. Physiol. — 1993. — Vol. 265. — P. 340—345.
13. Burnham N.L. // Amer. J. Hosp. Pharm. — 1994. — Vol. 51, N2. — P.210—218.
14. Moreb J., Zucali I.R. // Leuk. Lymphoma. — 1992. — Vol. 8, N4—5. — P. 267—275.
15. Scott M.D., Lubin B.H. et al. // J. Lab. clin. Med. — 1991. — Vol. 118, N1. — P. 7—16.
16. Лосева М.И., Шпагина Л.А. и др. // Гематол. и трансфузиол. — 1992. — N5—6. — С. 16—19.
17. Гаверилук Л.А., Шрайман М.Л. // Вопр. онкол. — 1992. — N10. — С. 1304—1308.
18. Bozzi A., Mavell I., Mondovi B. et al. // Cancer Biochem. Biophys. — 1979. — Vol. 3. — P. 135—141.
19. Bryant R.W., Bailey I.M. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1980. — Vol. 92. — P. 268—276.
20. Андроникашвили Э.Л., Мосулишвили Л.М. и др. // Пробл. гематол. — 1980. — N11. — С. 42—45.

POSSIBILITY OF THE USE OF ERITHROCYTE ANTIOXIDATIVE ENZYMES AS INDICATORS IN CHARACTERIZATION

A.O.Kumerova, V.I.Petuhov, A.P.Skesters, A.A.Silova, A.G.Lece

Medical Academy of Latvia

Blood and erythrocytes of 50 healthy volunteers and 105 patients with different forms of hemoblastoses were investigated. 54 patients had acute phase, 51 patients — remission stage of disease.

Essential differences in the activity of antioxidant enzymes (SOD, CAT, GSH-Px) were detected and compared with content of MDA and degree of anaemia.

Acute phase had more significantly alteration of antioxidant defence: diverse changes of the activity of SOD and CAT, significantly inhibition of GSH-Px, the high level of MDA and increased degree of anaemia.