

У. А. СУЛТАНОВА, Х. Я. КАРИМОВ, Ж. Д. ХУЖАХМЕДОВ (Ташкент)

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ С АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ

НИИ гематологии и переливания крови Минздрава Республики Узбекистан

Апластическая анемия (АА) в сочетании с поражением печени характеризуется тяжёлым течением, выраженным сдвигом миелограммы, резким изменением картины крови, высокой летальностью, вовлечением в патологический процесс различных органов и систем пищеварения. Результаты ультразвукового и биохимических исследований свидетельствуют о глубоких изменениях в печени, жёлчном пузыре, поджелудочной железе. У больных наблюдается дисбаланс в системе перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты, проявляющийся снижением активности ферментов супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы, повышением активности глутатионредуктазы, увеличением содержания промежуточных и конечных продуктов ПОЛ. Особенно это проявляется при сочетании АА с поражением печени, поэтому необходим постоянный контроль за этими органами.

Ключевые слова: апластическая анемия, гипоксия, кровь, костный мозг, печень, перекисное окисление липидов, эндогенная интоксикация, антиоксидантная защита.

Апластическая анемия (АА) является одним из наиболее тяжёлых заболеваний кроветворной системы, характеризуется панцитопенией периферической крови, недостаточностью костномозгового кроветворения [1]. Выраженная анемия, прогрессирующий геморрагический синдром и тяжёлые инфекционные осложнения усиливают гипоксию. Развивающаяся гипоксия при АА является пусковым механизмом активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) и развития эндогенной интоксикации, что, по-видимому, обуславливает вовлечение в патологический процесс различных органов и систем. Применение иммуносупрессивной лекарственной и антибактериальной терапии у больных с АА может вызвать поражение печени, замедление биотрансформации экзо- и эндогенных соединений. Кроме того, может развиваться гепатит вследствие многократной трансфузии эритроцитов и тромбоцитов [7, 9, 10]. Одной из причин накопления липопероксидов может быть снижение активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ), поэтому выяснение механизмов дисбаланса в системе ПОЛ–АОЗ при АА является актуальной проблемой гематологии.

Цель работы – определение продуктов ПОЛ и активности ферментов АОЗ у больных с АА.

Материалы и методы. Обследовано 45 больных, находившихся на лечении в гематологическом отделении НИИ гематологии и переливания крови в 2006–2007 гг. Возраст больных составил 16–40 лет, давность заболевания – от 3 до 26 мес. Диагноз приобретённой АА устанавливали на основании критериев панцитопении: анемии, грануло- и тромбоцитопении в анализах периферической крови и аплазии кроветворения (по результатам трепанобиопсии подвздошной кости – преобладание жирового костного мозга). Степень тяжести АА определяли согласно общепринятым критериям: при гранулоцитопении менее $0,5 \cdot 10^9$ в 1 л и тромбоцитопении менее $20 \cdot 10^9$ в 1 л. Больные были разделены на две группы.

В I группу вошёл 21 больной (12 мужчин и 9 женщин) с АА без поражения печени, во II – 24 больных (13 мужчин, 11 женщин) с АА и поражением печени. Все больные получали заместительную терапию донорскими эритроцитами, тромбоцитами и свежзамороженной плазмой крови (СЗП), кортикостероидными и иммуносупрессивными препаратами (сандимун). Контрольную группу составили 20 здоровых (11 мужчин и 9 женщин).

Больным проведено ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости. При этом оценивали размеры органов (печень, поджелудочная железа, жёлчный пузырь, селезёнка) и состояние паренхимы. Проводили общепринятое биохимическое исследование сыворотки крови, а также определяли уровень малонового диальдегида (МДА) [2], диеновых конъюгат и диеновых кетонов [4]. В эритроцитах определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) [8], каталазы [5], глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР) [5]. Выраженность эндотоксемии оценивали по уровню молекул средней массы (МСМ) [3]. Полученные результаты обработаны методом вариационного анализа с использованием программы Excel на персональном компьютере.

Результаты и их обсуждение. Проведённое исследование показало, что гепатит у больных II группы усугублял течение АА. Так, если в I группе были больные с АА средней тяжести, то во II группе у всех больных была тяжёлая форма АА. Подтверждением являются показатели миелограммы (табл.1), что проявилось выраженными анемическим и геморрагическим синдромами. Причём за период наблюдения (2006–2007 гг.) в I группе летальности не отмечено, во II группе из 24 больных выжили 9, т. е. летальность составила 71,5%. В миелограмме у всех больных определялась характерная для АА картина: малоклеточность костного мозга и резкое преобладание жирового костного мозга. В гемограммах больных отмечалась анемия, нейтро- и тромбоцитопения, лимфоцитоз, однако у больных II группы отклонения были более выражены.

Таблица 1. Показатели гемо- и миелограммы у больных с апластической анемией ($M \pm m$)

Показатель крови	Группа		
	контрольная (n = 20)	I (n = 21)	II (n = 24)
<i>Гемограмма</i>			
Нб, г/л	115,6±3,6	50,30±1,58 ^a	38,63±2,49 ^{a, б}
Эритроциты, · 10 ¹² в 1 л	4,35±1,25	2,10±0,15 ^a	1,02±0,05 ^{a, б}
Тромбоциты, · 10 ⁹ в 1 л	225,57± 10,00	20,20±0,17 ^a	3,50±0,16 ^{a, б}
Лейкоциты, · 10 ⁹ в 1 л	4,20±1,32	1,40±0,03 ^{a, б}	1,01±0,01
Сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты, %	59,2±3,2	30,70± 4,29 ^a	20,09±1,88 ^{a, б}
Лимфоциты, %	23,30±0,01	60,13±2,62 ^a	68,91±1,46 ^{a, б}
СОЭ, мм/ч	4,20±0,59	28,64±3,91 ^a	35,18±4,11 ^a
<i>Миелограмма</i>			
Миелоциты, %	9,6±1,3	2,47±0,26 ^a	0,96±0,09 ^{a, б}
метамиелоциты	11,5±1,5	2,32±0,22 ^a	1,20±0,08 ^{a, б}
палочкоядерные	18,2±1,0	5,65±0,35 ^a	3,07±0,17 ^{a, б}
сегментоядерные	18,6±1,2	4,85± 0,33 ^a	3,55±0,26 ^{a, б}
Эритроидные элементы, %	20,5±2,1	7,92±0,64 ^a	6,02±0,40 ^{a, б}
Лимфоциты, %	9,0±1,1	58,5±1,4 ^a	65,50±1,75 ^{a, б}
Плазматические клетки, %	0,9±1,1	2,20±0,23 ^a	3,07±0,17 ^{a, б}
Количество мегакариоцитов, кл./мкл	МКЦ достаточно	МКЦ не обнаружено	МКЦ не обнаружено

Примечания: ^a – различие между показателями практически здоровых и больных достоверно ($P < 0,05$);
^б – различие между показателями больных I и II группы достоверно ($P < 0,05$).

По данным УЗИ, в контрольной группе изменений со стороны печени, жёлчного пузыря, селезёнки, поджелудочной железы не выявлено, биохимические и

гематологические показатели были в пределах нормы. У больных I группы при УЗИ изменений со стороны жёлчного пузыря, селезенки, поджелудочной железы также не обнаружено. Печень у всех больных была незначительно увеличена, отмечено мелкоочаговое повышение эхогенности паренхимы, особенно стенок сосудов. У 15 больных II группы определялось утолщение стенок жёлчного пузыря, у 21 больного выявлено повышение эхогенности стенок сосудов паренхимы поджелудочной железы. У 1 больной спленэктомия произведена из-за травмы, у 2 – из-за основной болезни. Печень у всех больных была увеличена, эхогенность её паренхимы повышена за счёт мелких гиперэхогенных участков.

Наиболее выраженные изменения биохимических показателей отмечены у больных II группы, что проявлялось повышением активности аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, содержания билирубина, холестерина, снижением уровня общего белка и его фракций, соответствующими изменениями в коагулограмме.

Активные формы кислорода, продукты ПОЛ и липопероксиды являются цитотоксическими метаболитами. Накопление продуктов свободнорадикального окисления липидов может приводить к нарушению структуры и функции биомембран, вызывать инактивацию полимерных липид-липидных и липид-белковых комплексов, т. е. оказывать системное повреждающее действие на клетку, что сопровождается изменением метаболизма и нарушением функции органов и систем. Возможно, это действие связано с блокированием SH-групп белков, ингибированием неферментного и ферментного звена АОЗ и выраженной анемией, что обуславливает циркуляторную и гистотоксическую гипоксию различных органов и систем. Проведённое нами исследование показало угнетение активности ферментов АОЗ у больных с АА. Наиболее выраженные изменения были выявлены у больных II группы (табл. 2).

Таблица 2. Показатели перекисного окисления липидов, молекул средней массы и активность антиоксидантной защиты в сыворотке крови больных с апластической анемией ($M \pm m$)

Показатель	Группа		
	контрольная (n = 20)	I (n = 21)	II (n = 24)
МДА, нмоль/мг белка	5,010±0,007	10,1±0,1 ^a	14,01±1,07 ^{a, б}
Диеновые кетоны, Δ E234 /мл плазмы крови	0,181±0,009	0,865±0,030 ^a	0,938±0,010 ^a
Диеновые конъюгаты, Δ E234 /мл плазмы крови	1,120±0,025	1,79±0,05 ^a	2,08±0,09 ^a
Средние молекулы, усл.ед.	0,190±0,007	0,289±0,002 ^a	0,396±0,001 ^{a, б}
Активность ферментов			
СОД, усл. ед./ г Нб	83,03±0,37	33,67±0,59 ^a	28,70±0,92 ^a
ГР, ммоль/г Нб · мин	2,85±0,11	3,49±0,09 ^a	3,82±0,05 ^a
ГП, ммоль/г Нб · мин	598,0±35,3	298,30±1,48 ^a	211,60±3,41 ^{a, б}
каталаза, ммоль/г Нб · мин	69,80±0,56	33,72±0,42 ^a	28,40±0,99 ^a

Примечания: ^a – различие между показателями практически здоровых и больных достоверно ($P < 0,05$);
^б – различие между показателями больных I и II группы достоверно ($P < 0,05$).

Активность СОД снизилась в 2,5 и 2,9 раза, ГП – в 2 и 2,8 раза, каталазы – в 2 и 2,4 раза относительно значений в контрольной группе соответственно у больных I и II группы. Это свидетельствует о снижении защитных механизмов, антирадикальной защиты у больных с АА, что обуславливает бесконтрольную её

интенсификацию. Следует отметить, что каждый из этих ферментов действует на определённые звенья антирадикальной защиты, и это, по нашему мнению, определило различную выраженность изменения их активности. Так, СОД блокирует образование свободных радикалов, поэтому при снижении её активности содержание супероксидных радикалов резко увеличивается. Внедряясь в биомембраны и различные макромолекулы, они способствуют нарушению их конформации и разрушению. ГП участвует в обезвреживании перекисных радикалов. Значительное снижение её активности у больных с АА приводит к увеличению содержания диеновых конъюгат и диеновых кетонов, а также МДА. Однако функция ГП тесно связана с концентрацией восстановленного глутатиона, который является коферментом данного фермента. Восстановленный глутатион необходим для обезвреживания не только пероксидных радикалов, но и для детоксикации токсических метаболитов с участием глутатион-S-трансферазы. Поэтому в организме должен постоянно пополняться фонд восстановленного глутатиона, что происходит в основном за счёт регенерации окисленного глутатиона при участии фермента ГР. Так как потребность в восстановленном глутатионе высокая, то, по-видимому, наблюдаемое нами некоторое повышение его активности является адаптивной реакцией организма, направленной на поддержание необходимого уровня восстановленного глутатиона. Более выражено это проявляется у больных II группы с поражением печени.

Поскольку в основном отмечается снижение активности ферментов АОЗ, то естественно можно предположить, что интенсификация ПОЛ проявляется более выражено у больных данной группы. Действительно, содержание диеновых конъюгат и диеновых кетонов увеличивалось в 4,7 и 1,6 раза у больных I группы; в 5,1 и 1,8 раза – II группы; содержание МДА – соответственно в 2 и 2,8 раза. Более выраженная интенсификация ПОЛ у больных II группы может быть связана с токсическим действием свободных радикалов на органы и системы тканей. Вместе с тем в печени происходит интенсивное обезвреживание токсических метаболитов экзо- и эндогенного происхождения. Можно предположить, что снижение детоксикационных свойств печени способствует накоплению токсических радикалов, оказывающих ещё более выраженное негативное действие на макромолекулы. Подтверждением являются высокие значения МСМ у больных II группы, превышающие показатели контрольной и I групп соответственно в 2 и 1,52 раза.

Выводы. 1. АА в сочетании с поражением печени характеризуется тяжёлым течением, более выраженным сдвигом миелограммы, резким изменением картины крови, высокой летальностью, вовлечением в патологический процесс различных органов и систем пищеварения. 2. У больных с АА наблюдается дисбаланс в системе ПОЛ и АОЗ, проявляющийся снижением активности ферментов СОД, ГП и каталазы, увеличением содержания промежуточных и конечных продуктов ПОЛ, что более выражено при сочетании АА с поражением печени. 3. У больных с АА отмечено некоторое повышение активности ГР, направленное на поддержание высокого пула восстановленного глутатиона для глутатион-S-трансферазной реакции.

Список литературы

1. *Абдулкадыров А. М.* Справочник по гематологии. – СПб: Медицина, 2006. – 908 с.
2. *Андреева А. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А.* Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1989. – №1. – С. 13–17.
3. *Габриэлян Н. И., Дмитриев А. А., Кулакова Г. П.* и др. // Клиническая медицина. – 1981. – №10. – С. 38–42.
4. *Гаврилов В. Б., Бидула М. М., Фурманчук Д. А.* и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – №2. – С. 41–49.
5. *Зайцев В. Г., Закревский В. И.* Методические аспекты исследований свободно-радикального окисления и антиоксидантной системы организма // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 1998. – Вып. 54, №4. – С. 49–53.

6. Королюк М. А., Иванова И. Г., Майорова А. И. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16–19.
7. Куликова О. В., Масчан А. А., Азраненко В. А и др. Неиммунная рефрактерность к трансфузиям тромбоконцентратов у больных апластическими анемиями и гемобластозами // Гематология и трансфузиология. – 2002. – Т. 47, №3. – С. 24–29.
8. Мхитарян В. Г., Бадалян Г. Е. Определение активности супероксиддисмутазы // Журн. эксперим. и клин. медицины. – 1978. – №6. – С. 7–12.
9. Vacigalupo A., Bruno B., Sarraco P. et al. Antilymphocyte globulin, cyclosporine, prednisolone and granulocyte colony – stimulating factor for severe aplastic anemia // Blood. – 2000. – Vol. 15, N 95(6). – P. 1931–1934.
10. Young N. S. Immunosuppressive treatment of acquired aplastic anemia and immune-mediated bone marrow failure syndromes // Int. J. Hematol. – 2002. – Vol. 75, N 2. – P. 129–140.

ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ХВОРИХ З АПЛАСТИЧНОЮ АНЕМІЄЮ

У. А. Султанова, Х. Я. Каримова, Ж. Д. Хужахмедов (Ташкент, Узбекистан)

Апластична анемія (АА) у поєднанні з ураженням печінки характеризується тяжким перебігом, вираженням зрушенням мієлограми, різкими змінами картини крові, високою летальністю, втягненням у патологічний процес різних органів та систем травлення. Результати ультразвукового і біохімічних досліджень свідчать про глибокі зміни в печінці, жовчному міхурі, підшлунковій залозі. У хворих спостерігається дисбаланс в системі перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту, що проявляється у зниженні активності ферментів супероксиддисмутазы, глутатіонпероксидази і каталази, підвищенні активності глутатіонредуктази, збільшенні вмісту проміжних та кінцевих продуктів ПОЛ. Особливо це проявляється при поєднанні АА з ураженням печінки, тому необхідний постійний контроль за цими органами.

Ключові слова: апластична анемія, гіпоксія, кров, кістковий мозок, перекисне окислення ліпідів, ендогенна інтоксикація, антиоксидантний захист.

LIPID PEROXIDATION AND ACTIVITY OF ANTIOXIDATIVE PROTECTION ENZYMES IN PATIENTS WITH APLASTIC ANEMIA

U. A. Sultanova, H. J. Karimlova, Z. D. Huzhahmedov (Tashkent)

Aplastic anaemia (AA) in connection with liver damage is characterized by severe course of the disease, significant shift of the myelogram, considerable changes of blood picture, high lethality, taking in this pathological process various organs and digestion systems.

Results of ultrasonic and biochemical researches show presence of deep changes in the liver, gall bladder and pancreas.

The disbalance of lipid peroxidation and antioxidative protection system have been observed in these patients. It is revealed by decrease in the activity of enzymes of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase, in increase in capacity of intermediate and end-products of POL.

It is especially expressed in combination of AA with liver damage. That's why it is necessary to provide a constant control of these organs

Key words: aplastic anaemia, hypoxia, blood, bone marrow, lipid peroxidation, endogenous intoxication, antioxidative protection.