

Гончарова Е.В., Говорин А.В.

**ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ
И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ У БОЛЬНЫХ
ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ
ПРЕПАРАТАМИ ЖЕЛЕЗА И СЕЛЕНА**

Читинская государственная медицинская академия, г. Чита

Резюме. Цель: изучить показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты крови у 36 больных хронической железодефицитной анемией до лечения и после проведения терапии препаратами железа и селена.

Результаты: у больных анемией было выявлено увеличение содержания продуктов перекисного окисления липидов и снижение активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови. На фоне проведенного лечения было отмечено снижение показателей перекисного окисления липидов и увеличение активности антиоксидантных ферментов.

Ключевые слова: железодефицитная анемия, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты, препараты железа и селена.

Goncharova E.V., Govorin A.V.

**THE DYNAMICS OF INDICES OF LIPID PEROXIDATION
AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE BLOOD OF PATIENTS
WITH IRON DEFICIENCY ANEMIA ON BACKGROUND TREATMENT
WITH DRUGS IRON AND SELENIUM**

Summary. An aim: to study the indices of lipids peroxidation and antioxidant protection blood in 36 patients with chronic iron deficiency anemia before and after therapy with drugs iron and selenium.

Results: in patients with anemia revealed the increase of the content of products of lipid peroxidation and decrease of activity of antioxidant enzymes in erythrocytes of blood. On the background of the treatment was marked decline peroxide oxidation of lipids and increase of the activity of antioxidant enzymes.

Keywords: iron deficiency anemia, lipids peroxidation, antioxidant enzymes, drugs iron and selenium.

Изучение процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты крови (АОЗ) у больных хронической железодефицитной анемией (ЖДА), в том числе и на фоне лечения железосодержащими препаратами, по-прежнему остается актуальной [4, 5, 7, 8]. В ряде исследований показано снижение показателей ПОЛ и нормализация параметров АОЗ крови у пациентов ЖДА на фоне приема препаратов железа [5, 8, 11, 12]. Однако данные различных исследований не всегда согласуются. Так, установлено снижение содержания диеновых конъюгатов и активности антиоксидантной системы в сыворотке крови у беременных с железодефицитной анемией на фоне лечения препаратами железа [7]. В большинстве работ изучается динамика параметров ПОЛ при ЖДА без учета показателей АОЗ крови, а также исследуется влияние монотерапии препаратами железа при отсутствии антиоксидантной терапии. Работ по изучению показателей системы ПОЛ-АОЗ у пациентов ЖДА на фоне комбинированной терапии препаратами железа и антиоксидантными препаратами практически нет. В этой связи было бы актуальным проведение исследования, посвященного решению данной задачи.

Цель исследования: изучить динамику показателей ПОЛ: ТБК-активных продуктов сыворотки крови и оснований Шиффа эритроцитов крови и активности антиоксидантных ферментов эритроцитов крови: каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы у больных тяжелой ЖДА на фоне лечения препаратами железа и селена.

Материал и методы: исследование проводилось у 36 больных (31 женщина и 5 мужчин) хронической постгеморрагической железодефицитной анемией тяжелой степени, проходивших лечение в гематологическом отделении Краевой клинической больницы г. Читы и у 15 практически здоровых лиц. Средний возраст обследованных больных составил

41,7±12,6 года, средний уровень гемоглобина крови – 59,9±9,2 г/л. В исследование не включали пациентов с онкологическими заболеваниями, ишемической болезнью сердца, артериальной гипертензией, другими видами анемий, а также беременных женщин. Исследование открытое контролируемое, проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией и принципами GCP, одобрено ЛЭК. Всем больным проводилось полное клинико-гематологическое обследование. Для изучения уровня промежуточных интермедиатов свободнорадикального окисления липидов в сыворотке крови использовали тест с тиобарбитуровой кислотой [1]. Для изучения конечных продуктов ПОЛ определяли концентрацию оснований Шиффа по интенсивности флуоресценции в хлороформных экстрактах мембран эритроцитов крови при волне возбуждения 342 нм и волне эмиссии 413 нм и выражали в УЕ на мг липидов мембран эритроцитов. Принцип метода измерения активности каталазы эритроцитов крови заключался в способности пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс [6]. Метод определения активности глутатионпероксидазы эритроцитов крови основывался на её способности катализировать реакцию взаимодействия восстановленного глутатиона с гидроперекисью трет-бутила, а глутатионредуктазы – на её способности катализировать НАДФ·Н-зависимое восстановление окисленного глутатиона [9]. Активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы выражали в мкмоль/с·мг белка. Принцип метода определения активности супероксиддисмутазы основывался на способности фермента подавлять реакцию восстановления нитросинего тетразолия супероксидным анион радикалом, генерированным *in vitro* в системе ксантин : ксантинооксидаза [9]. Исследуемые показатели оценивали повторно через 2 месяца лечения препаратом сульфата железа (Сорбифер Дурулес 2 таблетки в сутки, что соответствует 200 мг Fe²⁺, в течение месяца) в сочетании с селенсодержащим препаратом Триовитом (комплексный антиоксидантный препарат, содержащий в своем составе бета-каротин, токоферола ацетат, аскорбиновую кислоту, органический селен, назначался в дозе 1 капсула 2 раза в день в течение 2 месяцев).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета статистических программ Statistica 6.0. Перед началом анализа вариационные ряды тестировались на нормальность. Во всех случаях распределение признака оказалось нормальным, что позволило применить параметрические методы статистики. Для сравнения контрольной группы и группы больных железodefицитной анемией использовали критерий Стьюдента, а для анализа повторных измерений вычисляли парный критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при P<0,05. Результаты представлены как M±SD, где M – выборочное среднее, SD – стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение. Было выявлено увеличение содержания ТБК-активных продуктов в сыворотке крови больных ЖДА на 7,7% по сравнению с контролем (P<0,001) (см. табл.). Уровень оснований Шиффа в эритроцитах крови также превышал показатель контрольной группы на 87,4% (P<0,001). При изучении показателей АОЗ у пациентов ЖДА было выявлено снижение активности в эритроцитах крови каталазы в 1,3 раза, глутатионпероксидазы – 2,5, глутатионредуктазы – 2,1 и супероксиддисмутазы – 1,5 раза по сравнению с контрольной группой (P<0,001). После применения у больных ЖДА терапии препаратами железа и селена содержание ТБК-активных продуктов в сыворотке снизилось на 11,9%, уровень оснований Шиффа в эритроцитах крови уменьшился на 59,0% (P<0,001). При этом указанные показатели после проведенного лечения практически не отличались от показателей группы контроля. Активность каталазы эритроцитов крови у пациентов ЖДА на фоне лечения увеличилась на 9,1% (P<0,001), однако оставалась ниже, чем в контрольной группе (P<0,001). Активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы эритроцитов крови у больных анемией также увеличилась на фоне проводимой терапии железом- и селенсодержащими препаратами в 3, 2,1 и 2 раза, соответственно (P<0,001). При этом активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы после проведенного лечения практически не отличалась от показателей группы контроля, а активность супероксиддисмутазы даже превышала таковую в 1,3 раза (P<0,001).

**Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты крови
у больных хронической железодефицитной анемией до и после лечения
препаратами железа и селена (M±SD)**

Показатель	Контрольная группа (n=15)	Больные ЖДА до лечения (n=36)	Больные ЖДА после лечения (n=36)
ТБК-активные продукты сыворотки, мкмоль/мг липидов	1,8±0,07	1,9±0,11*	1,7±0,05&
Основания Шиффа эритроцитов, УЕ на мг липидов	1,7±0,89	3,2±0,90*	2,0±0,66&
Активность каталазы эритроцитов, нмоль/с·мг белка	14,7±0,29	11,1±0,33*	12,1±0,56*,&
Активность глутатионпероксидазы эритроцитов, мкмоль/с·мг белка	183,8±44,49	74,6±38,95*	221,7±57,07&
Активность глутатионредуктазы эритроцитов, мкмоль/с·мг белка	78,7±16,66	37,1±22,70*	78,8±28,26&
Активность супероксиддисмутазы эритроцитов, % активности	47,9±7,56	31,0±6,63*	62,2±10,42*,&

Примечания: * – P<0,001 – достоверность различий по сравнению с контрольной группой; & – P<0,001 – достоверность различий по сравнению с группой больных до лечения.

Таким образом, у больных тяжелой ЖДА отмечается усиление процессов ПОЛ, о чем свидетельствует увеличение содержания в сыворотке крови ТБК-активных продуктов и оснований Шиффа в эритроцитах крови. Кроме того, у пациентов тяжелой анемией снижается активность системы АОЗ крови, что характеризуется уменьшением содержания в эритроцитах крови антиоксидантных ферментов: каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы. На фоне терапии препаратами железа и селена у больных ЖДА происходит улучшение показателей ПОЛ: уменьшение содержания ТБК-активных продуктов и оснований Шиффа в крови и увеличение активности антиоксидантных ферментов. При этом содержание каталазы в эритроцитах крови все же остается ниже, чем в контроле.

Активация ПОЛ у больных ЖДА, вероятно, связана с тем, что в условиях выраженной гипоксии происходит нарушение процессов тканевого дыхания с образованием избыточного количества активных форм кислорода, обладающих высокой способностью взаимодействовать с различными субстратами клетки, в первую очередь, с распространенными в мембранах липидами [3]. При свободнорадикальном окислении липидов образуются липидные гидроперекиси, способные повреждать клеточные мембраны, в частности мембраны лизосом [3, 12]. Освобождающиеся при этом протеолитические ферменты совместно с гидроперекисями повреждают мембраны сарколеммы и саркоплазматического ретикула и локализованные там ферментные системы [3]. Вследствие этого увеличивается вхождение кальция в саркоплазму с накоплением его в клетках, что может приводить в итоге к нарушению функции, метаболизма и структуры различных органов, т. е. к развитию у пациентов ЖДА висцеропа-

тий [5]. Повреждение мембранных структур эритроцитов может вызывать их гемолиз и изменение реологических свойств крови [5].

Усиление процессов ПОЛ у больных ЖДА также может быть связано с избыточным накоплением в плазме крови и в кардиомиоцитах жирных кислот, которые являются объектом действия активных форм кислорода. Увеличение содержания жирных кислот у пациентов ЖДА происходит вследствие нарушения в условиях гипоксии процессов их окисления и этерификации [3]. Существенную роль в активации липопероксидации у больных ЖДА также может играть снижение активности антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и каталазы. В норме антиоксидантные ферменты поддерживают свободнорадикальное окисление на безопасном уровне, они восстанавливают кислород до менее активных форм, а также осуществляют обрыв цепей на этапах образования кислородных радикалов, пероксидных радикалов и гидропероксидов [2, 10]. У больных ЖДА уменьшение активности антиоксидантных ферментов приводит к срыву защитных механизмов и, как следствие, усилению процессов ПОЛ.

Применение у больных ЖДА, наряду с препаратами железа, селенсодержащего препарата способствует улучшению показателей системы ПОЛ-АОЗ: снижению содержания в сыворотке крови ТБК-активных продуктов и оснований Шиффа в эритроцитах крови, а также увеличению активности антиоксидантных ферментов. Добавление в комплексную терапию ЖДА препарата селена, вероятно, приводит к его включению в состав ферментов глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, участвующих в разложении перекиси водорода [2]. В нашем исследовании активность указанных ферментов увеличилась в 3 и 2,1 раза, соответственно. Насыщение железом у больных ЖДА способствует усилению кислородтранспортной функции эритроцитов и уменьшению гипоксии, вследствие чего могут восстанавливаться процессы тканевого дыхания с уменьшением выработки активных форм кислорода. Возможно, это и есть основной путь снижения процессов ПОЛ у пациентов ЖДА. Кроме того, при устранении гипоксии на фоне лечения, вероятно, улучшаются процессы окисления и этерификации жирных кислот, снижается их количество в кардиомиоцитах и плазме крови, что приводит к уменьшению их окисления свободными радикалами.

Заключение: таким образом, у пациентов тяжелой ЖДА были выявлены нарушения в системе ПОЛ-АОЗ, характеризующиеся увеличением содержания продуктов ПОЛ и снижением активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови. Применение у данной категории больных комплексной терапии препаратами железа и селена способствует снижению показателей ПОЛ и повышению активности антиоксидантных ферментов.

Литература:

1. Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лаб. Дело. – 1988. – № 11. – С. 41-43.
2. Бышевский А.Ш. Биохимия для врача / А.Ш. Бышевский, О.А. Терсенов. – Екатеринбург, 1994. – 384 с.
3. Василенко В.Х. Миокардиодистрофия / В.Х. Василенко, С.Б. Фельдман, Н.К. Хитров. – М.: Медицина, 1989. – 272 с.
4. Дворецкий Л.И. Состояние процессов свободнорадикального перекисного окисления у больных железодефицитной анемией на фоне лечения препаратом Сорбифер Дурулес / Л.И. Дворецкий, Е.А. Заспа Е.А. // РМЖ. – 2008. - №17. – С. 1116-1120.
5. Зюбина Л.Ю. Патогенез, клиника, диагностика и лечение висцеральных поражений при железодефицитных состояниях: Автореф. дис....докт. мед. наук. – Новосибирск, 2000. – 57 с.
6. Королюк М.А. Метод определения каталазы / М.А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16-19.

7. Кузин В.Б. Влияние препарата «сульфат железа + аскорбиновая кислота» на эндотелий и перекисное окисление липидов при железодефицитной анемии у беременных / В.Б. Кузин [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2010. – Т.91, №6. – С. 777-781.
8. Ловцова Л.В. Влияние препаратов железа на процесс перекисного окисления липидов при лечении железодефицитной анемии у беременных / Л.В. Ловцова // Медицинский альманах. – 2011. - №4. – С. 177-180.
9. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник. Медицинские лабораторные технологии / Под ред. А.Н. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 1999. – 600 с.
10. Beard J. Iron status and exercise / J. Beard, B. Tobin // Am J. Clin. Nutr. – 2000. – Vol. 72, Suppl. 2. – P. 1254-59.
11. Isler M. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase in erythrocytes with iron deficiency anemia: effects of different treatment modalities / M. Isler [et al] // Croat. Med. J. – 2002. – №43 (1). – P. – 16-19.
12. Kurtoglu E. Effect of iron supplementation on oxidative stress and antioxidant status in iron deficiency anemia / E. Kurtoglu [et al] // Biol. Trace Elena Res. – 2003. – №96 (1-3). – P. 117-124.