

Л.А. Демидчик, Л.Е. Муравлёва, В.Б. Молотов-Лучанский, Р.Е. Бакирова, Д.А. Ключев,
Е.А. Колесникова

ХАРАКТЕРИСТИКА ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА ЭРИТРОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

РГП «Карагандинский государственный медицинский университет» МЗ РК, Караганда, Казахстан

Целью работы стало изучение показателей окислительного стресса, содержания окисленно-модифицированных белков и осмотической стойкости эритроцитов больных внебольничной пневмонией. Объект исследования: эритроциты 33 больных внебольничной пневмонией и 19 здоровых людей. Определялось содержание карбонильных производных, мембраносвязанного гемоглобина, малонового диальдегида и оценивалась осмотическая стойкость эритроцитов. Результаты исследования показали нарушения окислительного метаболизма в эритроцитах, что вносит вклад в прогрессирование заболевания.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, эритроциты, окислительный стресс

CHARACTERIZATION OF THE OXIDATIVE METABOLISM OF ERYTHROCYTES IN PATIENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

L.A. Demidchik, L.E. Muravlyova, V.B. Molotov-Luchanskiy, R.E. Bakirova, D.A. Kluyev,
E.A. Kolesnikova

Karaganda State Medical University, Karaganda, Kazakhstan

Free radical oxidation plays an important role in the development and exacerbation of the pathological process. Oxidative stress causes a disturbance of the rheological properties of red blood cells and modification of their membrane. Activation of processes of peroxidation of lipids disturbs the integrity of the erythrocyte membrane. In community-acquired pneumonia the study of oxidative metabolism of red blood cells, especially the oxidative modification of their proteins, dedicated to a limited number of studies. Oxidative modification of hemoglobin dissipate a key role in the development of inflammation induced by hypoxia. The aim of the research was to study indicators of oxidative stress, the content of oxidized modified proteins in the red blood cells and the permeability of their membranes to low-molecular-weight hydrophilic substances in patients with community-acquired pneumonia. The object of the study were the erythrocytes of blood of 33 patients with community-acquired pneumonia and 19 practically healthy persons of young and middle age from 27 to 42 years. Evidence of oxidative processes in red blood cells was a significant increase of the oxidized-modified proteins (carbonyl derivatives) in erythrocytes. The increase in the content of membrane-bound hemoglobin may also be due to the high level of lipid peroxidation in erythrocyte membranes. The results of the study showed the presence of intracellular oxidative stress in erythrocytes of patients with community-acquired pneumonia, which leads to damage to their membranes and release of hemoglobin into the blood plasma.

Key words: community-acquired pneumonia, erythrocytes, oxidative stress

ВВЕДЕНИЕ

Внебольничная пневмония (ВП) остается одним из наиболее распространенных заболеваний в мире (10–12 %) [6]. Высокая заболеваемость и смертность при внебольничной пневмонии определяют необходимость дальнейших углубленных исследований механизмов развития и прогрессирования заболевания, поиска путей оптимизации диагностики и терапии. Механизмы развития внебольничных пневмоний разнообразны и зависят как от возбудителя, так и от путей проникновения инфекции в легкие [8]. Однако не вызывает сомнения ведущая роль свободнорадикального окисления как в развитии, так и в усугублении патологического процесса, и вовлеченность в него эритроцитов. Окислительный стресс вызывает нарушение реологических свойств эритроцитов и модификацию их мембраны, что подтверждено рядом исследований [3, 4, 5, 6]. Показано, что отек, характерный для воспаления, приводит к уменьшению диаметра капилляра и скорости движения эритроцитов, способствуя их агрегации и стазу крови. Эритроциты в данной ситуации испытывают условия гипоксии, ацидоза и активизации ПОЛ, что в конечном итоге нарушает целостность эритроцитарной мембраны [4, 5]. Особый интерес в этом аспекте представляет изучение внутриклеточных белков, в частности окислительная модификация ге-

моглобина, поскольку именно этому процессу отводят ключевую роль в развитии воспаления, индуцированного гипоксией. При внебольничной пневмонии исследованию окислительного метаболизма эритроцитов, особенно окислительной модификации их белков, посвящено ограниченное количество исследований.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить показатели окислительного стресса, содержание окисленно-модифицированных белков в эритроцитах и проницаемость их мембран для низкомолекулярных гидрофильных веществ у больных внебольничной пневмонией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили эритроциты крови 33 больных внебольничной пневмонией и 19 практически здоровых людей. Все исследуемые были разделены на три группы. Группу I составили пациенты с пневмонией средней степени тяжести ($n = 24$), в группу II вошли пациенты с тяжелой пневмонией ($n = 9$). Полученные результаты сравнивали со значениями контрольной группы. Более 75 % больных внебольничной пневмонией были лицами молодого и среднего возраста – от 27 до 42 лет. Внебольничная пневмония диагностировалась на

основании наличия легочного инфильтрата, верифицированного рентгенологически. Интоксикационный синдром и синдром дыхательной недостаточности превалировал в клинической картине внебольничной пневмонии тяжелой степени. Критериями исключения из исследования были наличие неинфекционных инфильтративных поражений легких (инфаркт-пневмония, новообразования, саркоидоз, туберкулез легких, паразитарные инвазии). До начала исследования от всех больных и здоровых лиц было получено информированное согласие на участие.

Окислительная модификация белков эритроцитов оценивалась по уровню карбонильных производных (КП), определяемых по методу R.L. Levine et al [9] с использованием динитрифенилгидразина, и мембранно-связанного гемоглобина, содержание которого определяли по методу З.С. Токтамысовой и Н.Х. Биржановой [7]. Интенсивность реакций свободнорадикального окисления в эритроцитах оценивали по уровню малонового диальдегида (МДА), определяемого по методу М.С. Гончаренко и А.М. Латыповой [1]. Проницаемость эритроцитарных мембран и их осмотическую стойкость (ОСЭ) оценивали по стойкости эритроцитов в смеси с разным объёмным содержанием изотонических растворов хлористого натрия и мочевины по методу В.С. Камышниковой [2].

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета программ STATISTICA (версия 7.0). Различия в исследуемых группах оценивали по непараметрическому критерию Краскелла – Уоллиса. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведенного исследования выявлено статистически значимое повышение уровня КП в эритроцитах больных внебольничной пневмонией средней и тяжелой степени относительно значений контрольной группы ($p < 0,005$) в среднем в 1,8 раза. В то же время отличий по данному показателю между средней и тяжелой степенями пневмонии не выявлено (табл. 1). Однако имеется тенденция к увеличению уровня КП с нарастанием степени тяжести заболевания, поскольку увеличивался процент больных, у которых уровень КП превышал значения контроля.

По содержанию МДА в эритроцитах больных между средней и тяжелой степенью пневмонии статистически значимого различия не выявлено. Однако в обеих группах больных пневмонией уровень МДА значимо снижался относительно значений контрольной группы на 25 % и 23 % соответственно (табл. 1). В группе

больных пневмонией средней степени тяжести у 42 % больных уровень МДА был ниже значений контрольной группы при отсутствии значений, превышающих контроль. В группе больных тяжелой пневмонией ситуация практически не изменилась: также присутствовали значения, соответствующие контролю и ниже его, без видимых тенденций к изменению показателя.

У больных пневмонией средней степенью тяжести выявлено незначительное увеличение мембранно-связанного гемоглобина относительно контроля, тогда как у больных тяжелой степенью пневмонии его показатели значимо превышали значения контрольной группы (табл. 1).

Сравнительное исследование показателей ОСЭ в исследуемых группах выявило, что процент гемолиза эритроцитов в 50%-м растворе мочевины в 2 раза превышал значения контрольной группы как при пневмонии средней степени, так и при тяжелой пневмонии. В целом эритроциты больных пневмонией средней степени тяжести характеризовались низкой осмотической стойкостью и высоким процентом гемолиза во всех разведениях мочевины относительно контроля. Для эритроцитов больных тяжелой пневмонией высокий процент гемолиза эритроцитов отмечался только в 50%-м и 55%-м растворах мочевины, тогда как в остальных разведениях эритроциты были более устойчивы, и процент гемолизированных эритроцитов был ниже, чем в контрольной группе.

Свободнорадикальное окисление, как известно, является универсальным повреждающим механизмом для мембран клеток, влияя на фосфолипидный состав, увеличивая ее текучесть и избирательный транспорт веществ в клетку, что отражается на показателях ОСЭ. Подтверждением наличия окислительных процессов в эритроцитах является выявленное нами значительное увеличение окислено-модифицированных белков (КП) в эритроцитах. Увеличение содержания мембраносвязанного гемоглобина также может быть связано с высоким уровнем липопероксидации в эритроцитарных мембранах, поскольку в гипоксических условиях увеличивается неполное восстановление кислорода с последующей продукцией свободных радикалов, которые в свою очередь инициируют окисление белков цитоскелета и гемоглобина. Результатом является образование мембранно-связанного гемоглобина [3, 5]. Кроме этого, по данным литературы, проницаемость эритроцитарных мембран коррелирует с ростом тяжести эндогенной интоксикации, которая не исключается при бактериальной этиологии пневмонии. При расширении очага воспаления увеличивается и протяженность сосудистого русла,

Таблица 1
Показатели окислительного стресса и окислительной модификации белков эритроцитов больных ВП различной степени тяжести ($X \pm m$)

Группы	КП, нмоль/мл	МДА, мкмоль/мл	Мембранно-связанный гемоглобин (%)
Контроль	9,62 ± 2,22	1,22 ± 0,21	62,77 ± 3,02
Больные ВП средней степени тяжести	17,85 ± 3,77*	0,91 ± 0,27*	63,73 ± 1,97
Больные ВП тяжелой степени	17,31 ± 2,97*	0,94 ± 0,23*	71,64 ± 2,35*

Примечание. * – различия с контролем статистически значимы ($p < 0,05$).

вовлеченного в воспалительный очаг, и количество эритроцитов, заблокированных в капиллярах за счет отека. Как отмечалось нами выше, в таких условиях эритроцит испытывает условия гипоксии, ацидоза и активизации ПОЛ. В условиях гипоксии компенсаторный эритропоэз обеспечивает поступление в кровотоки молодых, низкодеформируемых эритроцитов с коротким периодом жизни. Данная ситуация характерна для пневмонии средней степени, при которой выявлена низкая осмотическая стойкость эритроцитов.

Таким образом, результаты нашего исследования показали наличие внутриклеточного окислительного стресса в эритроцитах больных внебольничной пневмонией, который приводит к повреждению их мембран и выходу гемоглобина в плазму крови, что в свою очередь неизбежно будет провоцировать нарушение редокс-реакций и в плазме крови и вносить вклад в прогрессирование заболевания.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Гончаренко М.С., Латипова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лабораторное дело. – 1985. – № 1. – С. 60–61.

Goncharenko MS, Latipova AM (1985). Evaluation method of lipid peroxidation [Metod otsenki perekisnogo okisleniya lipidov]. *Laboratornoe delo*, (1), 60-61.

2. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник. – 2003. – 495 с.

Kamyshnikov VS (2003). Clinical and biochemical laboratory diagnostics. Reference [Kliniko-biokhimicheskaya laboratornaya diagnostika. Spravochnik], 495.

3. Маюрова Т.В. Особенности оксидативных процессов у спортсменов-конькобежцев // Вестник ЮУрГУ. – 2012. – № 28. – С. 126–128.

Mayurova TV (2012). Features of oxidative processes in ice-skaters. [Osobennosti oksidativnykh protsessov u sportsmenov-kon'kobezhstev]. *Vestnik Yuzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo universiteta*, (28), 126-128.

4. Мойсеенко В.А., Антоненко Л.И., Аршинникова Л.Л. Показатель проницаемости эритроцитарных

мембран в оценке функционального состояния организма // Крымский терапевтический журнал. – 2007. – Т. 2, № 2. – С. 103–105.

Moyseenko VA, Antonenko LI, Arshinnikova LL (2007). Permeability index of erythrocyte membranes in the assessment of the functional state of the organism. [Pokazatel' pronitsaemosti eritrotsitarnykh membran v otsenke funktsional'nogo sostoyaniya organizma]. *Krymskiy terapevticheskiy zhurnal*, 2 (2), 103-105.

5. Орлов Ю.П. Внутрисосудистый гемолиз эритроцитов в развитии органных дисфункций при критических состояниях // Общая реаниматология. – 2008. – Т. 4, № 2. – С. 88–93.

Orlov YP (2008). Intravascular hemolysis in the development of organ dysfunction in critical conditions [Vnutrisosudisty gemoliz eritrotsitov v razvitii organnykh disfunktsiy pri kriticheskikh sostoyaniyakh]. *Obshchaya reanimatologiya*, 4 (2), 88-93.

6. Синопальников А.И., Козлов Р.С. Внебольничные инфекции дыхательных путей: руководство для врачей. – М.: Премьер МТ. – 2007. – 352 с.

Sinopalnikov AI, Kozlov RS (2007). Community-acquired respiratory tract infections: guide for physicians [Vnebol'nichnye infektsii dykhatel'nykh putey: rukovodstvo dlya vrachey], 352.

7. Токтамысова З.С., Биржанова Н.Х. О мембрано-связанном гемоглобине // Биофизика. – 1990. – Т. 35, № 6. – С. 1019–1020.

Toktamysova ZS, Birzhanova NK (1990). On the membrane-bound hemoglobin [O membranosvyazannom gemoglobine]. *Biofizika*, 35 (6), 1019-1020.

8. Capelastegui A, Espana PP, Bilbao A, Gamazo J, Medel F, Salgado J, Altube L (2012). Etiology of community-acquired pneumonia in a population-based study: link between etiology and patients characteristics, process-of-care, clinical evolution and outcomes. *BMC Infectious Diseases*, 12 (1), 134-142.

9. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Stadtman ER (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 186, 464-478.

Сведения об авторах

Information about the authors

Демидчик Людмила Андреевна – преподаватель РГП «Карагандинский государственный медицинский университет» МЗ РК (100008, Казахстан, г. Караганда, ул. Гоголя, 40; тел.: 8 (7112) 51-34-79; e-mail: Lusenok2008@mail.ru)

Demidchik Lyudmila Andreevna – lecturer of Karaganda State Medical University (100008, Kazakhstan, Karaganda, Gogol str., 40; tel.: +7 (7112) 51-34-79; e-mail: Lusenok2008@mail.ru)

Муравлёва Лариса Евгеньевна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биологической химии РГП «Карагандинский государственный медицинский университет» МЗ РК (e-mail: lem2403@mail.ru)

Muravlyova Larisa Evgenyevna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Biochemistry of Karaganda State Medical University (e-mail: lem2403@mail.ru)

Молотов-Лучанский Вилен Борисович – доктор медицинских наук, профессор, проректор по учебно-методической работе РГП «Карагандинский государственный медицинский университет» МЗ РК (e-mail: vilen53@mail.ru)

Molotov-Luchankiy Vilen Borisovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Prorector for Teaching and Studies of Karaganda State Medical University (e-mail: vilen53@mail.ru)

Бакирова Рысжан Емельевна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой введения в клинику РГП «Карагандинский государственный медицинский университет» МЗ РК (e-mail: bakir15@mail.ru)

Bakirova Ryszhana Emelyevna – Doctor of Medical Sciences, Docent, Head of the Department of Introduction to Clinical Medicine of Karaganda State Medical University (e-mail: bakir15@mail.ru)

Клюев Дмитрий Анатольевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии РГП «Карагандинский государственный медицинский университет» МЗ РК (e-mail: mythrandir79@mail.ru)

Klyuev Dmitriy Anatolyevich – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Biochemistry of Karaganda State Medical University (e-mail: mythrandir79@mail.ru)

Колесникова Евгения Александровна – докторант РГП «Карагандинский государственный медицинский университет» МЗ РК (e-mail: kolesnikova@kgmu.kz)

Kolesnikova Evgeniya Aleksandrovna – Doctoral Candidate of Karaganda State Medical University (e-mail: kolesnikova@kgmu.kz)