

**ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТЕЙ АНТИОКСИДАНТНЫХ И
МЕМБРАНОСВЯЗАННЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЭРИТРОЦИТАХ
ПАЦИЕНТОВ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

Зубрицкая Г.П.

*к. б. н., ведущий научный сотрудник
Государственного научного учреждения «Институт биофизики
и клеточной инженерии НАН Беларуси»
petro371@mail.ru*

Найда Н. Н.

*аспирант кафедры кардиологии и внутренних болезней
Белорусского государственного медицинского университета,
заведующий кардиологическим отделением
УЗ «5-ая городская клиническая больница» г. Минска
hel.flying@mail.ru*

Нападовская К.Д.

*младший научный сотрудник
Государственного научного учреждения «Институт биофизики
и клеточной инженерии НАН Беларуси»
kristina.napadovskaya@mail.ru*

Климович Е.С.

*магистрант Белорусского государственного университета
katrysha@bk.ru*

Григоренко Е.А.

*к. м. н., доцент, заместитель директора по международному
сотрудничеству и аналитической работе
Государственного учреждения «Республиканский научно-
практический центр «Кардиология» Министерства здравоохранения
Республики Беларусь.
alegri@tut.by*

Митьковская Н.П.

*д.м.н.,
профессор, директор
Государственного учреждения «Республиканский научно-
практический центр «Кардиология» Министерства здравоохранения
Республики Беларусь,
заведующий кафедрой кардиологии и внутренних болезней
Белорусского государственного медицинского университета
mitkovskaya1@mail.ru*

Слобожанина Е.И.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ,
Минск, 25 января 2022 г.

*д.б.н., профессор, член-корреспондент НАН Беларуси, главный научный сотрудник Государственного научного учреждения «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»
eislobozhanina@gmail.com*

Установлено снижение концентрации восстановленного глутатиона в эритроцитах пациентов, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения, а также в эритроцитах лиц с артериальной гипертензией и бессимптомным поражением головного мозга по данным магнитно-резонансной томографии по сравнению с пациентами с артериальной гипертензией без поражения головного мозга. Обнаружена прямая зависимость активности мембраносвязанных ферментов в эритроцитах пациентов с показателями степени тяжести и риска артериальной гипертензии. Повышение активности глутатионпероксидазы и каталазы в эритроцитах являлось подтверждением компенсаторной мобилизации глутатионовой системы.

***Ключевые слова:** артериальная гипертензия; эритроциты; антиоксидантная система защиты; мембраносвязанные ферменты.*

**CHANGES IN THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANTS AND
MEMBRANE-BOUND ENZYMES IN ERYTHROCYTES
OF PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION**

Zubritskaya G.P.

candidate of biological sciences, leading researcher of the State Scientific Institution "Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus"

petro371@mail.ru

Naida N.N.

Postgraduate student of the Department of Cardiology and Internal Medicine

*Belarusian State Medical University, head of the cardiology department
ME "5th City Clinical Hospital" in Minsk*

hel.flying@mail.ru

Napadovskaya K.D.

Junior Researcher of the State Scientific Institution "Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus"

kristina.napadovskaya@mail.ru

Klimovich E.S.

Master's student of the Belarusian State University

katrysha@bk.ru

Grigorenko E.A.

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Deputy Director for International Cooperation and Analytical Work

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ,
Минск, 25 января 2022 г.

*State institution "Republican Scientific and Practical Center" Cardiology "of
the Ministry of Health of the Republic of Belarus.*

alegri@tut.by

Mitkovskaya N.P.

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of the Republican Scientific
and Practical Center "Cardiology" of the Ministry of Health of the Republic of
Belarus.*

cardio@bsmu.by

Slobozhanina E.I.

*Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of the
National Academy of Sciences of Belarus, Chief Researcher of the State Scientific
Institution "Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy
of Sciences of Belarus"*

eislobozhanina@gmail.com

A decrease in the concentration of reduced glutathione was found in the erythrocytes of patients with acute cerebrovascular accident, as well as in the erythrocytes of people with arterial hypertension and asymptomatic brain damage according to magnetic resonance imaging compared with patients with arterial hypertension without brain damage. A direct relationship was found between the activity of membrane-bound enzymes in the erythrocytes of patients with indicators of the severity and risk of arterial hypertension. An increase in the activity of glutathione peroxidase and catalase in erythrocytes was a confirmation of the compensatory mobilization of the glutathione system.

Key words: *arterial hypertension ; erythrocytes antioxidant defense system ; membrane-bound enzymes.*

Артериальная гипертензия (АГ) в XXI веке сохраняет лидирующее место в группе главных причин сердечно-сосудистой смертности и является одной из ведущих медико-социальных проблем во всем мире. На сегодняшний день более одного миллиарда человек страдает данным заболеванием, а к 2025 году ожидается рост числа заболевших до 1,5 миллиардов. Однако истинная заболеваемость АГ неизвестна и часто регистрируется при развитии осложнений, таких, как инфаркт миокарда, внезапная смерть, хроническая сердечная недостаточность, почечная недостаточность, острое нарушение мозгового кровообращения. Ситуация осложняется тем, что большинство пациентов не подозревают о наличии повышенного артериального давления, поскольку АГ часто протекает бессимптомно. В настоящее время широко обсуждается вопрос о роли дисбаланса в системе окислители–антиоксиданты как одного из этиопатогенетических факторов многих заболеваний. Несмотря на огромное количество работ, посвященных исследованиям как системы антиоксидантной защиты (АОС), так и процессов окисления, вопрос о роли данных нарушений в патогенезе развития АГ остается недостаточно

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ, Минск, 25 января 2022 г.

изученным. Также остается открытым вопрос об активности мембраносвязанных ферментов в эритроцитах пациентов при АГ, изменение функционирования которых может привести к нарушению микроциркуляции.

Цель исследования – провести сравнительный анализ активности ферментов антиоксидантной защиты и мембраносвязанных ферментов в эритроцитах пациентов с АГ и поражением головного мозга (ГМ), у лиц с АГ при отсутствии повреждения данного органа-мишени, а также в эритроцитах пациентов с перенесенным острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК).

Материалы и методы. В работе использована периферическая кровь пациентов УЗ «5-я городская клиническая больница» г. Минска, включенных в исследование: с АГ без поражения ГМ (n=15), АГ с поражением ГМ (n=17) и лиц с АГ, перенесших ОНМК (n=10). Эритроциты отделяли от плазмы путем центрифугирования крови при 2000g 10 мин и трижды отмывали в 155 мМ NaCl. Эритроцитарные мембраны выделяли по методу Доджа и сотр. Определение активностей каталазы оценивали (Королюк и др., 1988), глутатионпероксидазы (Моин, 1986). Концентрацию восстановленного глутатиона (GSH) и активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) определяли по методам Элмана. Определение активности мембраносвязанной метгемоглобинредуктазы в мембранах эритроцитов проводили по скорости окисления NADH.

Результаты и обсуждение. Как известно, в эритроцитах каталитическая активность каталазы высока, когда концентрация H_2O_2 в клетке выше $10^{-4}M$, при более низких концентрациях перекиси водорода доминируют пероксидазные реакции. Нами установлено, что в эритроцитах пациентов с перенесенным ОНМК наблюдалось достоверное увеличение активности как ГП, так и каталазы по сравнению с пациентами с АГ без поражения головного мозга (рисунок 1 А и Б). В то же время содержание GSH – главного низкомолекулярного антиоксиданта эритроцитов, было достоверно снижено ($P<0,05$) как у пациентов с ОНМК, так и в группе с АГ и поражением головного мозга по сравнению с группой пациентов с АГ без поражения ГМ (рисунок 1 В).

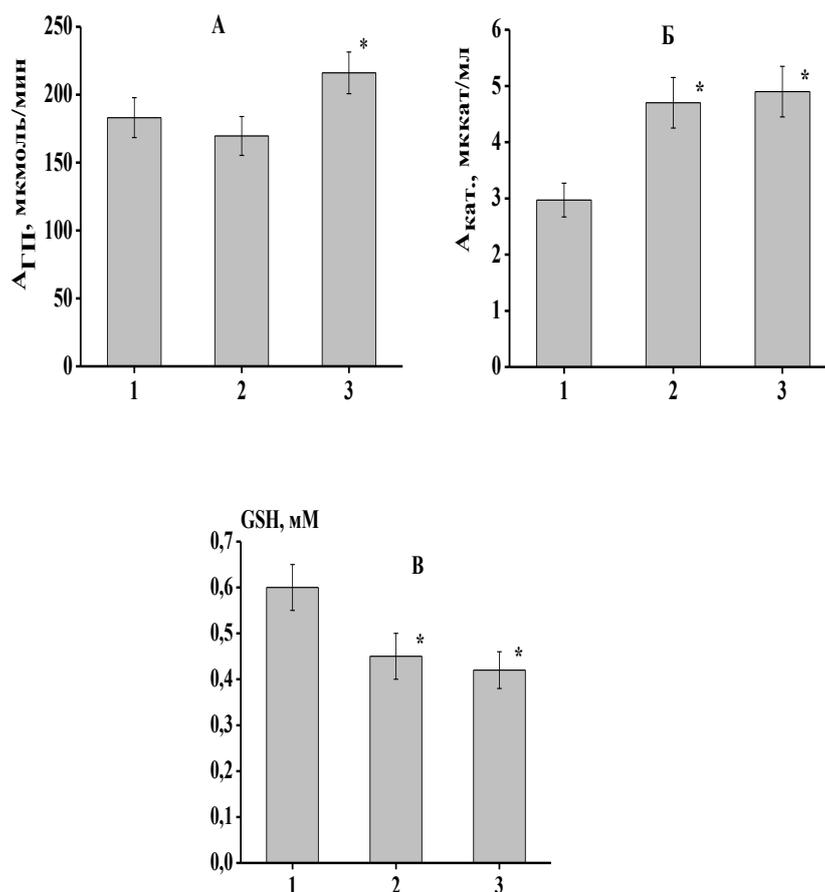


Рисунок 1 Активность ферментов антиоксидантной защиты (А - глутатионпероксидазы, Б - каталазы) и уровень GSH (В) в эритроцитах пациентов с АГ (1), АГ и поражением головного мозга (2), АГ и ОНМК в анамнезе (3). *Достоверность анализируемого показателя к группе пациентов с АГ без поражения ГМ ($P < 0,05$).

По всей вероятности, основную антиоксидантную нагрузку после перенесенного ОНМК несут ферменты антиоксидантной защиты: на фоне снижения концентрации GSH наблюдалось повышение активности ГП и каталазы, что является подтверждением компенсаторной мобилизации глутатионовой системы у пациентов, перенесших ОНМК. Можно предположить, что при определенных патологических условиях включаются адаптивные механизмы, поэтому ГП и каталаза начинают играть важную роль в приобретении клеткой устойчивости к окислительному стрессу. Нами обнаружено, что активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах пациентов с АГ (степень 1, риск 2 и степень 2, риск 3) с поражением ГМ было достоверно повышено по сравнению с сопоставимой группой пациентов с АГ без поражения ГМ. Прослеживается тенденция к увеличению активности ГП, снижению каталазной активности и концентрации ВГ соответственно:

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ,
Минск, 25 января 2022 г.

190,3±18,2 мкмоль/мин, 2,26±0,25 мккат/мл, 0,34±0,045 мМ и 170,6±16,2 мкмоль/мин, 3,5±0,3 мккат/мл, 0,72±0,05 мМ. Известно, что для сохранения способности эритроцитов к деформируемости большое значение имеет структурно-функциональное состояние их мембран, а для газообмена – физико-химическое состояние гемоглобина. Для превращения метгемоглобина в оксигемоглобин в эритроцитах имеются две ферментативные системы – одна из них связана с гликолизом, другая – с пентозофосфатным путем. Принято считать, что наибольшее физиологическое значение имеет восстановление гемоглобина с участием мембраносвязанной NADH-метгемоглобинредуктазы. Нами обнаружено, что активность мембраносвязанной NADH-метгемоглобинредуктазы практически не изменялась в группах пациентов с АГ (степень 1, риск 2; степень 2, риск 3) с поражением головного мозга по сравнению с группой пациентов без поражения ГМ, а в эритроцитах пациентов с ОНМК по сравнению с другими исследуемыми группами проявлялась тенденция к повышению активности мембраносвязанной NADH-метгемоглобинредуктазы. Мембраносвязанная АХЭ является ферментом, характеризующим структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов, и поэтому ее каталитическая активность находится под контролем структурного состояния липидной фазы мембраны. Обнаружено, что значение константы Михаэлиса (K_M) для АХЭ в изолированных мембранах эритроцитов пациентов с АГ степень 1, риск 3 и АГ степень 2, риск 3 было достоверно повышено по сравнению с группой пациентов без поражения ГМ (таблица).

Таблица - Параметры активности ацетилхолинэстеразы в изолированных эритроцитарных мембранах пациентов с артериальной гипертензией

Группы обследованных пациентов	Максимальная скорость, ($V_{\text{макс}}$)* 10^{-4} М/мин ⁻¹	Константа Михаэлиса, (K_M) ммоль
Пациенты с АГ без поражения головного мозга	16,5±1,6	1,2±0,05
Пациенты с АГ степень 1, риск 3 с поражением головного мозга	28,0±2,5* P < 0,05	2,1±0,15
Пациенты с АГ степень 2, риск 3 с поражением головного мозга	39,5±3,2** P < 0,01	2,0±0,07

* и ** Достоверность анализируемого показателя к группе пациентов с АГ без поражения ГМ.

Таким образом, показано, что в эритроцитах пациентов с АГ с поражением ГМ наблюдались высокие значения максимальной скорости

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ,
Минск, 25 января 2022 г.

реакции и константы Михаэлиса АХЭ по сравнению со значениями данных параметров в эритроцитах пациентов с АГ без поражения ГМ. Полученные данные свидетельствуют о том, что активность мембраносвязанных ферментов в эритроцитах пациентов с АГ зависит от степени поражения ГМ.