

Корреляция антиоксидантной и свертывающей системы крови в физиологических условиях

В. П. Мищенко, Г. А. Лобань-Череда

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) с небольшой скоростью постоянно происходит в любой клетке, различных мембранных структурах. В определенных пределах оно является физиологичным и имеет большое общебиологическое значение для существования живых систем [2, 9, 10]. Уровень ПОЛ оказывает существенное влияние на коагуляционный потенциал крови [5, 8, 12, 16], что связано с высоким содержанием в мембранах фосфолипидов (фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина, фосфатидилхолина), подвергающихся аутоокислению. Названные фосфолипиды являются составными элементами тромбопластина. При свободнорадикальном окислении происходят деструкция мембран клеток и повышение их проницаемости, нарушение липид-белковых взаимодействий, поэтому можно допустить фрагментацию и попадание в кровоток частиц мембран, обладающих тромбопластическими свойствами. Активация свободнорадикального окисления приводит к усилению синтеза индукторов агрегации — эндоперекисей, тромбоксана A_2 , угнетению синтеза простациклина [8, 11, 20—22, 26]. Факторы, определяющие резистентность клеточных структур к окислительному повреждению, помимо липидной композиции мембран и уровня эндогенных антиоксидантов, включают ряд ферментов, непосредственно реагирующих с промежуточными продуктами реакции перекисного окисления или активными формами кислорода [3, 9, 16]. Эти факторы, ингибирующие свободнорадикальное окисление, составляют антиоксидантную систему организма. Ее состояние должно оказывать значительное влияние на систему регуляции агрегатного состояния крови (РАСК) в физиологических условиях и при патологических состояниях организма.

Многочисленными исследованиями, проведенными в нашей лаборатории [11—14], а также другими авторами [7, 17, 19] установлено, что интенсификация свободнорадикального окисления, наблюдаемая при экспериментальных воздействиях (эмоционально-болевой стресс, синдром перекисидации, гиподинамия и др.) и некоторых заболеваниях (коронарном и церебральном атеросклерозе) приводит к гиперкоагуляции. В физиологических условиях роль ПОЛ и антиоксидантной системы в поддержании РАСК изучена недостаточно.

В связи с этим в экспериментах на интактных животных и в исследованиях на здоровых людях мы изучали активность антиоксидантных ферментов, уровень свободнорадикального окисления липидов мембран эритроцитов, состояние их коагуляционного потенциала и сделали попытку установить корреляцию между изучаемыми показателями. Взаимоотношения изучаемых систем рассматривали на примере эритроцитов, учитывая, что их мембраны, несмотря на высокоспецифические свойства, отражают структурно-функциональные характеристики клеточных мембран, а также состояние обменных процессов на уровне целостного организма. Кроме того эритроциты, обладая прокоагулянтной активностью, оказывают существенное влияние на систему РАСК.

Методика

Исследовали кровь интактных животных (20 крыс, 25 морских свинок, 15 кур, 10 кроликов, 10 кошек, 10 собак) и 50 здоровых людей обоего пола в возрасте от 18 до 40 лет. Определяли перекисную резистентность эритроцитов [23], уровень накопления малонового диальдегида в ходе трехчасовой инкубации мембран эритроцитов [4], активность супероксиддисмутазы [1], содержание общего, восстановленного и окисленного глутатиона [15]. О тромбопластической активности эритроцитов судили по разнице между временем рекальцификации безтромбоцитной плазмы и временем рекаль-

Корреляция между показателями свертывающей и антиоксидантной систем
у интактных животных и здоровых людей

Показатель	Статистический показатель	Крысы	Морские свинки	Куры	
Время рекальцификации, с	$M \pm m$	$78,4 \pm 7,6$	$24,1 \pm 1,2$	$240,0 \pm 6,8$	
Перекисный гемолиз, %	$M \pm m$	$20,5 \pm 2,1$	$9,5 \pm 0,9$	$9,0 \pm 0,3$	
Накопление малонового диальдегида, %	$M \pm m$	$127,0 \pm 13,4$	$265,7 \pm 10,7$	$135,0 \pm 1,6$	
Активность супероксиддисмутазы, усл. ед.	$M \pm m$	$1,9 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$	
Коэффициент парной корреляции между тромбопластической активностью и перекисным гемолизом	R P	0,344 0,5	0,470 <0,01	0,836 <0,01	
Коэффициент парной корреляции между тромбопластической активностью и накоплением малонового диальдегида	R P	0,524 <0,05	0,298 0,2	0,839 <0,01	
Коэффициент парной корреляции между тромбопластической активностью и активностью супероксиддисмутазы	R P	0,575 0,2	0,125 0,5	0,493 <0,05	
Коэффициент множественной корреляции между тромбопластической активностью, перекисным гемолизом, малоновым диальдегидом и активностью супероксиддисмутазы	R P	0,975 <0,001	—	—	
Показатель	Статистический показатель	Кролики	Кошки	Собаки	Люди
Время рекальцификации, с	$M \pm m$	$43,0 \pm 2,3$	$47,0 \pm 5,3$	$41,5 \pm 7,2$	$50,9 \pm 5,2$
Перекисный гемолиз, %	$M \pm m$	$15,3 \pm 1,3$	$10,9 \pm 1,5$	$18,8 \pm 2,6$	$7,9 \pm 1,0$
Накопление малонового диальдегида, %	$M \pm m$	$192,8 \pm 8,0$	$135,9 \pm 5,4$	$154,3 \pm 36,1$	$182,3 \pm 7,4$
Активность супероксиддисмутазы, усл. ед.	$M \pm m$	$1,8 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,5$	$1,8 \pm 0,6$	$1,6 \pm 0,5$
Коэффициент парной корреляции между тромбопластической активностью и перекисным гемолизом	R P	0,860 <0,01	0,160 0,5	0,113 0,5	0,546 <0,05
Коэффициент парной корреляции между тромбопластической активностью и накоплением малонового диальдегида	R P	0,219 0,1	0,700 0,1	0,864 <0,02	0,277 0,2
Коэффициент парной корреляции между тромбопластической активностью и активностью супероксиддисмутазы	R P	0,117 0,1	0,907 <0,001	0,333 0,5	0,205 0,5
Коэффициент множественной корреляции между тромбопластической активностью, перекисным гемолизом, малоновым диальдегидом и активностью супероксиддисмутазы	R P	—	0,981 <0,001	0,923 <0,001	0,969 <0,001

цификации плазмы при добавлении эритроцитов [18]. Определяли влияние эритроцитов на тромбиновое время [25] и фибринолитическую активность плазмы [24]. Проведен корреляционный анализ полученных результатов [6].

Результаты и их обсуждение

Мы установили, что коагуляционный потенциал эритроцитов животных и людей в значительной мере зависит от активности антиоксидантных ферментов и ПОЛ их мембран. Так, отмечена выраженная прямая корреляция между тромбопластической активностью эритроцитов и их перекисным гемолизом (таблица). Коэффициенты парной корреляции составили: у морских свинок — 0,470 ($P < 0,01$), кур — 0,836 ($P < 0,01$), кроликов — 0,860 ($P < 0,01$), людей — 0,546 ($P < 0,05$). Прямая корреляция установлена между тромбопластической активностью эритроцитов и количеством накопленного малонового диальдегида в их мембранах в ходе трехчасовой инкубации. Коэффициенты парной корреляции составили: у крыс — 0,524 ($P < 0,05$), кур — 0,839 ($P < 0,01$), собак — 0,864 ($P < 0,02$). Между тромбопластической активностью эритроцитов и активностью супероксиддисмутазы у некоторых животных также установлена прямая корреляция. Коэффициенты парной корреляции составили: у кур — 0,493 ($P < 0,05$), кошек — 0,907 ($P < 0,001$). Между остальными показателями достоверной парной корреляции обнаружить не удалось.

У некоторых групп животных и у людей мы определяли наличие множественной корреляции между изучаемыми показателями. В результате в этих группах установлена множественная корреляция между тромбопластической активностью эритроцитов, их перекисной резистентностью, количеством накопленного малонового диальдегида в ходе трехчасовой инкубации и активностью супероксиддисмутазы. Коэффициенты множественной корреляции составили: у крыс — 0,975 ($P < 0,001$), кошек — 0,981 ($P < 0,001$), собак — 0,923 ($P < 0,001$), людей — 0,969 ($P < 0,001$).

Из наших результатов следует, что уже в физиологических условиях активность ПОЛ мембран определяет гемокоагулирующие свойства клеток. Супероксиддисмутаза — ключевой фермент антирадикальной защиты, — взаимодействуя с супероксидными анион-радикалами, предупреждает свободнорадикальное повреждение мембран. Как показано, в физиологических условиях его активность обеспечивает определенный уровень коагуляционного потенциала клеток. Ферментные антиокислительные системы, достаточные в обычных условиях, становятся неэффективными при наличии прооксидантов, при стрессе, гиподинамии, избыточном калорийном питании и других состояниях [2, 9, 10]. Происходит интенсификация ПОЛ и вследствие этого — гиперкоагуляция [11, 12, 14]. В этом случае активность свертывания крови усиливается настолько, что становится патологической и естественные антиокислительные системы предотвратить ее неспособны.

Таким образом, две физиологические системы организма — антиоксидантная и гемокоагулирующая — находятся в тесной функциональной взаимосвязи. Антиоксидантная система предотвращает свободнорадикальное повреждение мембран клеток, выделение в кровь коагулоактивных веществ, предупреждает чрезмерную активность гемостатической функции и распространение тромбоза. В физиологических условиях функциональный баланс между ними обеспечивает поддержание гомеостаза.

CORRELATION OF ANTIOXIDANT AND COAGULATING BLOOD SYSTEMS
UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS

V. P. Mishchenko, G. A. Loban-Chereda

Examinations carried out on intact animals and healthy people have revealed a paired and multiple correlation which exists between thromboplastic properties of erythrocytes, the level of malondialdehyde accumulation in their membranes and the superoxydismutase activity.

Medical Stomatological Institute,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Poltava

1. Брусов О. С., Герасимов А. М., Панченко Л. Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на аутоокисление адреналина // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1976.— № 1.— С. 33.
2. Бурлакова Е. Б. Молекулярные основы применения антиоксидантов при лечении сердечно-сосудистых заболеваний // Объединен. пленум. науч. советов АМН и АН СССР «Биологические мембраны и проблемы современной кардиологии».— М., 1979.— С. 22—24.
3. Верболович В. П., Макашев Ж. К., Петренко В. П. Зависимость резистентности эритроцитов от активности антиокислительных ферментов // Гематология и трансфузиология.— 1985.— № 5.— С. 31—35.
4. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.— М.: Наука, 1972.— 249 с.
5. Воскресенский О. Н., Зелицкий В. Л. О влиянии перекисей липидов и α -токоферола на свертывание крови // Механизм действия лекарств и ядов.— Киев, 1967.— С. 8—9.
6. Коришук Е. В., Карагодин Ю. А., Воеводский В. С. Методические указания по вероятностным методам обработки экспериментальных данных в биологии и медицине.— М.: Горьковская правда, 1979.— 40 с.
7. Кубатиев А. А., Андреев С. В. Перекиси липидов и тромбоз // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1979.— № 5.— С. 414—417.
8. Кубатиев А. А., Андреев С. В. Перспективы применения антиоксидантов в профилактике и терапии тромбозов // Противотромботическая терапия в клинической практике: Новое в теории, диагностике, лечении.— М., 1982.— С. 73—74.
9. Ланкин В. З. Ферментативное перекисное окисление липидов // Укр. биохим. журн.— 1984.— № 3.— С. 317—331.
10. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс, профилактика.— М.: Наука, 1981.— 277 с.
11. Мищенко В. П. Перекисное окисление липидов, антиоксиданты и свертываемость крови // Актуальные проблемы гемостазиологии.— М.: Наука, 1981.— С. 153—158.
12. Мищенко В. П., Гончаренко Л. Л., Бобырев В. Н. и др. Механизмы развития гиперкоагуляции при экспериментальном перекисном атеросклерозе // Кардиология.— 1981.— № 4.— С. 67—70.
13. Мищенко В. П., Лобань Г. А., Грицай Н. Н., Филоненко Р. Н. Свободнорадикальное окисление липидов и гемокоагулирующая активность эритроцитов у больных ишемической болезнью мозга // Врачеб. дело.— 1985.— № 3.— С. 47—49.
14. Новосельцева Т. В., Витриченко Е. Е., Лобань Г. А. и др. Влияние эмоционально-болевого стресса на функциональные свойства эритроцитов и тромбоцитов в крови крыс // Нервные и гуморальные механизмы компенсации в условиях действия патогенных факторов.— Запорожье, 1985.— С. 103.
15. Петрунькина А. М. Определение глутатиона в крови // Практическая биохимия.— Л., 1961.— С. 152—154.
16. Храпова Н. Г. Перекисное окисление липидов и системы, регулирующие его интенсивность // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ.— М., 1981.— С. 147—155.
17. Чазов Е. И. Тромбозы и эмболии в клинике внутренних болезней.— М.: Наука, 1966.— 263 с.
18. Bergerhof H. D., Roka L. Estimation of plasma recalcification time // Zschr. Vitamin-Hormon und Ferment.— 1954.— N 6.— P. 25—39.
19. Cropper G. P., Howell R. M. The effect of peroxidized lipids on thromboplastin activity // Biochem. Soc. Trans.— 1984.— Vol. 12.— N 5.— P. 845.
20. Gryglewski R. J., Bunting S., Moncada S. Arterial walls are protected against deposition of platelet thrombi by a substance (prostaglandin X) which they make from prostaglandin endoperoxides // Prostaglandins.— 1976.— N 12.— P. 685—714.
21. Gryglewski R. J., Deminska-Kiec A., Korbut R. A possible role of thromboxane A_2 (TXA₂) and prostacyclin (PGI₂) in circulation // Acta biol. et med. ger.— 1978.— N 5/6.— P. 715—723.
22. Hirsh P. D., Hillis L. D., Cambell W. B. et al. Coronary prostacyclin and thromboxane levels in patients with coronary artery disease // Prostaglandins in clinical medicine.— Chicago etc., 1982.— P. 273—287.
23. Jager F. C. Determination of vitamin E requirement in rats by means of spontaneous haemolysis in vitro // Nutr. Diets.— 1968.— N 3.— P. 215—223.