



© С. Я. Гусейнова, Р. Т. Гулиева, М. З. Дадашов, А. И. Джафаров, Ф. Р. Яхъяева, Т. М. Гусейнов

DOI: [10.15293/2226-3365.1605.15](https://doi.org/10.15293/2226-3365.1605.15)

УДК 57 + 612

## ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ГЕМОГЛОБИНА ИЗОЛИРОВАННЫХ ЭРИТРОЦИТОВ В ИНКУБАЦИОННОЙ СРЕДЕ, СОДЕРЖАЩЕЙ НИТРИТ НАТРИЯ И СЕЛЕНИТ НАТРИЯ

С. Я. Гусейнова, Р. Т. Гулиева, М. З. Дадашов, А. И. Джафаров,  
Ф. Р. Яхъяева, Т. М. Гусейнов (Баку, Азербайджан)

*Рассмотрено влияние нитрита натрия и селенита натрия при их совместном и одиночном воздействии на процессы окисления гемоглобина (Hb), перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность антиоксидантных (АО) энзимов – глутатионпероксидазы (ГП) и каталазы в эритроцитах человека in vitro. Выявлено, что нитриты оказывают значительное воздействие на окислительные процессы в эритроцитах и Hb, а селенит натрия ослабляет развитие нитрит-индуцированного окислительного процесса в эритроцитах и снижает образование метгемоглобина (MetHb) на 25–40 %. Оказывая значительное воздействие на окислительные процессы в эритроцитах, нитриты не приводят к заметному возрастанию показателей ПОЛ в них. Под воздействием нитрита происходит незначительное изменение активности АО фермента ГП (до 20–30 %), активность каталазы во всех случаях существенно падает (в 1,5–2 раза). Нитриты в инкубационной среде способствуют увеличению концентраций мембранного оксигемоглобина и MetHb, а селенит натрия оказывает тормозящее действие на этот процесс.*

**Ключевые слова:** нитрит натрия, селенит натрия, эритроциты, метгемоглобин, глутатионпероксидаза, каталаза, перекисное окисление липидов, мембранный гемоглобин.

**Гусейнова Севиндж Явус** – научный сотрудник, Институт физики, Национальная Академия наук Азербайджана.

E-mail: [seva.gy7@mail.ru](mailto:seva.gy7@mail.ru)

**Гулиева Ругия Таирага** – старший научный сотрудник, Институт физики, Национальная Академия наук Азербайджана.

E-mail: [ruhiyya.guliyeva@yahoo.com](mailto:ruhiyya.guliyeva@yahoo.com)

**Дадашев Мурсал Зубайил** – доктор философии (PhD) по биологии, ведущий научный сотрудник, Институт физики, Национальная Академия наук Азербайджана.

E-mail: [mursald@mail.ru](mailto:mursald@mail.ru)

**Джафаров Ахверди Исмаил** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Институт физики, Национальная Академия наук Азербайджана.

E-mail: [hagverdi.cafarov@yahoo.com](mailto:hagverdi.cafarov@yahoo.com)

**Яхъяева Флорида Радик** – доктор философии (PhD) по биологии, старший научный сотрудник, Институт физики, Национальная Академия наук Азербайджана.

E-mail: [florida.r.yahyayeva@mail.ru](mailto:florida.r.yahyayeva@mail.ru)

**Гусейнов Токай Магеррам** – доктор биологических наук, заведующий лабораторией «Экологическая биофизика», Институт физики, Национальная Академия наук Азербайджана.

E-mail: [thuseynov@physics.ab.az](mailto:thuseynov@physics.ab.az)



Одним из приоритетных участников антропогенного загрязнения внешней среды являются азотсодержащие соединения в связи с нарастающим ростом промышленных и особенно химических производств, химизацией сельского хозяйства и др., что неизбежно приводит к значительному росту нитратно-нитритной нагрузки на живые организмы.

Нитриты способны оказывать свое действие на всех структурно-функциональных уровнях, от целого организма до отдельных молекул. В основе системных механизмов этого влияния лежит реакция превращения нитрит-ионов в монооксид азота ( $NO$ ), который способен как стимулировать, так и подавлять процессы окисления биомолекул [1–2]. Одними из основных видов вредных действий  $NO$  являются его участие в окислении гемоглобина, образовании  $NO$ -комплексов с гемоглобином и ферментами антиоксидантной системы [3]. В результате запускается цепь биохимических реакций, которая приводит к истощению АО системы в клетке и в организме в целом.

Среди важных компонентов системы, участвующей в регуляции уровня окислительных процессов в живых организмах находится эссенциальный микроэлемент селен, входящий в состав около 30 протеинов, часть из которых обладает АО свойствами [4]. В этой связи механизм развития окислительного стресса, индуцированного нитритами в биологических объектах в присутствии соединений селена, представляет определенный интерес.

В данной работе рассматривалось возможное АО действие селенита натрия в инкубационной среде, содержащей нитрит натрия, продуцирующий окись азота и индуцирующий окислительный процесс в гемоглобине и эритроцитах.

## Материалы и методы

В модельных опытах основным объектом исследования являлись эритроциты человека и гемоглобин. В экспериментах была использована кровь доноров, взятая из локтевой вены в пробирки с гепарином. При центрифугировании  $150 G$  в течение 15 мин проводили отделение плазмы крови от эритроцитов. Для получения суспензии эритроцитов осадок эритроцитов трижды отмывали в десятикратном объеме физиологического раствора ( $0,9\% NaCl$ ), центрифугировали при  $150 G$  в течение 15 мин с последующим удалением надосадочной жидкости. Гемолиз эритроцитов достигался путем разбавления эритроцитарной массы дистиллированной водой в соотношении 1:9 с последующим замораживанием, оттаиванием и центрифугированием при  $10\ 000 G$ .

В качестве источника оксида азота использовали нитрит натрия ( $NaNO_2$ , конечная концентрация которого в инкубационной среде составляла  $0,5–1,0$  мМ). Селенит натрия использовали с конечной концентрацией в инкубационной среде в широком интервале от  $1$  мМ до  $1$  мкМ.

Нами были проведены две серии опытов с различными сроками инкубирования образцов ( $30$  и  $60$  мин) при температуре  $37^\circ C$ . Каждая серия включала в себя один контрольный и четыре опытных образца. Контрольный образец содержал  $2,2$  мл суспензии эритроцитов, а в четырех опытных образцах – по  $2,0$  мл суспензии эритроцитов и  $NaNO_2$ ,  $Na_2SeO_3$ ,  $Na_2SeO_3 + NaNO_2$  и  $NaNO_2 + Na_2SeO_3$ , соответственно.

В первой серии опытов все образцы инкубировали  $30$  мин, в образцах с совместным воздействием селенита и нитрита интервал между их последовательным внесением в инкубационную среду составлял  $15$  мин. Во вто-

рой серии опытов с общим сроком инкубирования 60 мин интервал между внесением селенита и нитрита составлял 30 мин.

Накопление *MetHb* оценивали по полуэмпирическим формулам, предложенным *J. Szebeni et al.* [5]. Активность глутатионпероксидазы в лизатах эритроцитов определяли по методу В. М. Моина [6], а каталазы по методу М. А. Королюка [7]. Уровень ПОЛ эритроцитов оценивали по накоплению окрашенных продуктов, образующихся в реакции малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [8].

Все измерения проводили на спектрофотометре СФ-46.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости  $p = 0,05$  [9].

## Результаты

Проведена предварительная серия опытов по уточнению закономерности накопления *MetHb* в инкубационной среде, содержащей эритроциты в зависимости от содержания в ней нитрита натрия и времени инкубирования (рис. 1). Из рис. 1 видно, что уже в первые 5 мин инкубирования при 37 °С имеет место окислительная модификация *Hb*, которая достигает максимума в 0,5–1 часовом интервале времени и после некоторого спада длительно (до двух часов инкубирования) находится на стабильно высоком уровне. Из использованных концентраций оптимальным эффектом обладают 0,7 мМ и 1,0 мМ, которые и были использованы в последующих экспериментах в интервале времени инкубирования от 15 до 90 мин.

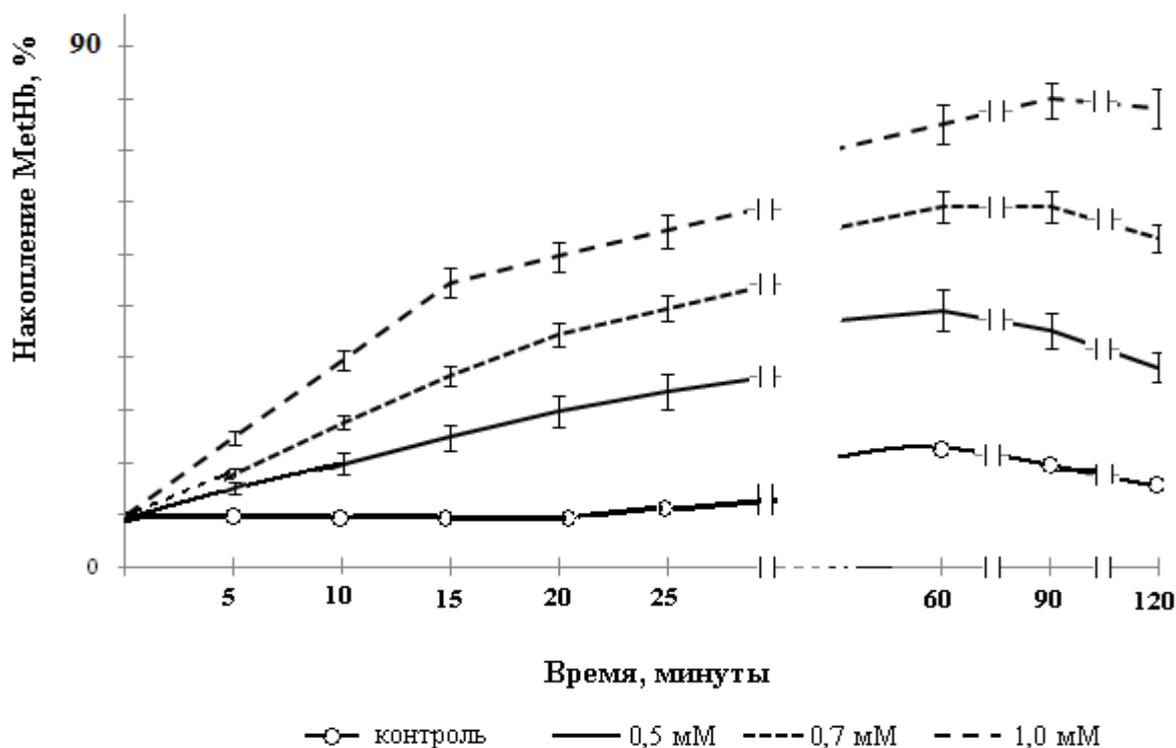


Рис. 1. Дозозависимое нитрит-индуцированное накопление *MetHb* в инкубационной среде с суспензией эритроцитов в присутствии 0,5 мМ – 1,0 мМ  $\text{NaNO}_2$

Fig. 1. Dose-dependent accumulation of nitrite induced *MetHb* in the incubation medium with the suspension of erythrocytes in the presence of 0.5 mM - 1.0 mM of  $\text{NaNO}_2$

Следующим необходимым шагом исследования было выявление окислительного действия самого селенита натрия, взятого в широком концентрационном диапазоне от 1,0 мМ до 1 мкМ. Эти опыты показали, что сам селенит натрия в концентрационных пределах ниже 0,1 мМ не оказывает существенного влияния на накопление *MetHb*, а концентрация 1,0 мМ значимо (до 30 %) повышает уровень *MetHb*.

В табл. 1 представлены данные по уровням накопления *MetHb* в эритроцитах под воздействием как одиночного, так и совместного присутствия  $Na_2SeO_3$  и  $NaNO_2$  при различных сроках инкубирования. Из полученных данных следует, что селенит натрия во всех случаях несколько снижает окислительное действие нитрита (25–40 %), и это влияние в малой степени зависит от последовательности

внесения селенита или нитрита в среду. В случае предварительного (до нитрита) внесения  $Na_2SeO_3$  окислительный эффект нитрита на *Hb* менее выражен. Накопление *MetHb* достигало своего максимального стабильного уровня уже в первые 30 мин. Учитывая это можно полагать, что для варианта инкубирования эритроцитов с  $NaNO_2 + Na_2SeO_3$  более длительное нитритное воздействие с общим сроком 60 мин не играет существенной роли в усилении окислительного эффекта относительно варианта  $Na_2SeO_3 + NaNO_2$ , при котором срок воздействия нитрита вдвое меньше (ввиду его внесения после 30 мин инкубации пробы с селенитом). Последнее говорит о том, что основной окислительный эффект достигается уже в первые 30 мин инкубирования.

Таблица 1

**Изменение содержания *MetHb* и МДА и активности ГП и каталазы в эритроцитах, инкубированных при 37 °С в среде, содержащей 1,0 мМ  $NaNO_2$  и 0,1 мМ  $Na_2SeO_3$**

Table 1

**Changing content of *MetHb*, MDA, GP and catalase activity in erythrocytes, incubated at 37 °C in medium containing 1,0 mM and 0,1 mM of  $NaNO_2$  and  $Na_2SeO_3$**

Образцы (n = 5)	MetHb, %		МДА, нМ/гHb		Активность ГП, мкМ GSH/мин на 1 г Hb		Активность ката- лазы, мкМ/мин	
	30 мин	60 мин	30 мин	60 мин	30 мин	60 мин	30 мин	60 мин
контроль	1,5 ± 0,5	1,8 ± 0,4	3,35 ± 0,27	3,52 ± 0,28	220 ± 22	240 ± 26	2,78 ± 0,08	2,77 ± 0,16
$NaNO_2$	60,3 ± 1,1**	82,3± 0,4**	3,72± 0,23	4,70 ± 0,35*	185 ± 16*	200 ± 12*	2,21 ± 0,12*	1,93 ± 0,11*
$Na_2SeO_3$	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,3	3,21 ± 0,26	4,50 ± 0,31*	241 ± 14	260 ± 17	2,10 ± 0,15*	2,22 ± 0,05*
$Na_2SeO_3$ + $NaNO_2$	35,4 ± 3,0**	60,4 ± 12,3**	4,51 ± 0,35*	4,21 ± 0,29*	247 ± 18	222 ± 14	2,50 ± 0,14*	2,18 ± 0,12*
$NaNO_2$ + $Na_2SeO_3$	45,7 ± 5,3**	52,4 ± 12,3**	4,45 ± 0,35*	4,33 ± 0,28*	230 ± 13	280 ± 18*	2,23 ± 0,12*	2,44 ± 0,13

Примечание: достоверность относительно контроля: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$

Далее изучали влияние совместного действия нитрита и селенита на состояние ПОЛ эритроцитов и на активность таких важных АО энзимов как ГП и каталаза. Несмотря на то, что нитриты увеличивают генерацию *MetHb* в десятки раз, что является важной предпосылкой для развития ПОЛ, учитывая стандартную гипотетическую цепочку развития окислительной деструкции эритроцитов: *Hb* → *MetHb* → фериллгемоглобин → деструкция SH-групп → агрегация (тельца Гейнца) → окисление липидов мембран [10], было установлено, что интенсивность ПОЛ под действием нитрита натрия увеличилась менее, чем в 1,5 раза.

Изменения активности ГП при получасовом и часовом инкубированиях были близки между собой. Однако в вариантах совместного действия селенита и нитрита при часовом инкубировании в случае предварительного (перед нитритом) внесения в среду селенита наблюдалось незначительное уменьшение активности ГП (7 %), а при предварительном внесении нитрита – ее увеличение (17 %) (табл. 1). Активность каталазы, в отличие от активности ГП, во всех опытных образцах достоверно снижалась.

В литературе имеются сведения о том, что под воздействием окислительных факторов образуются агрегаты гемоглобина и его

дериватов с внедрением их в мембраны эритроцитов. Эти агрегаты, оседая в мембранном пространстве эритроцитов, вызывают окислительную модификацию мембраны [11]. В связи с этим мы рассматривали влияние нитрита натрия на состояние содержания оксигемоглобина (*oxyHb*) и *MetHb* в суспензии эритроцитов до и после сепарации (центрифугированием 10 000 *G* × 30 мин) мембран эритроцитов (табл. 2).

Как видно из данных табл. 2, увеличение длительности инкубирования эритроцитов с нитритом натрия приводит к увеличению доли мембранного *oxyHb* и *MetHb*, что можно оценить и по относительному уменьшению их в супернатантах (рис. 2). После центрифугирования содержание названных форм гемоглобина в супернатантах эритроцитов уменьшается на ~ 8 %, что свидетельствует об их перемещении в примембранное пространство эритроцитов.

Этим же способом оценивали содержание *MetHb*, образующегося при нитритном воздействии на *Hb* в течение 30-минутного инкубирования в присутствии селенита натрия. Результаты показывают, что в присутствии селенита в инкубационной среде содержание мембраносвязанного или агрегированного *Hb* и *MetHb* уменьшается на ~ 25 %, что указывает на АО действие селенита в условиях нитритного воздействия (рис. 2).

Таблица 2

**Влияние нитрита натрия на метгемоглобинообразование и уровень мембраносвязанного гемоглобина в изолированных эритроцитах человека при инкубации с  $\text{NaNO}_2$  при 37 °С**

Table 2

**Effect of sodium nitrite on *MetHb* accumulation and the level of membrane-bound hemoglobin in isolated human erythrocytes with  $\text{NaNO}_2$  by incubation at 37 °С**

Образцы (n = 3)	<i>MetHb</i> в лизате, %	Мембраносвязанный <i>Hb</i> , %
Контроль	2,57 ± 0,18	0,7 ± 0,11
После 15 мин инкубации	28,74 ± 1,39	2,41 ± 0,26
После 30 мин инкубации	49,26 ± 0,71	3,23 ± 0,51

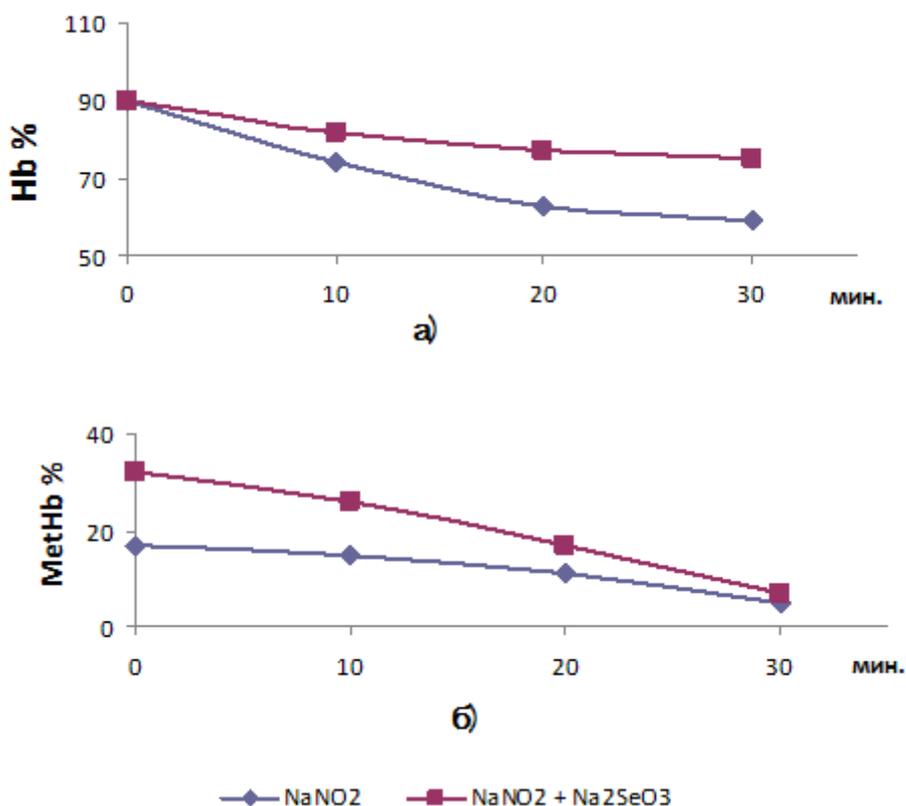


Рис. 2. Влияние нитрита натрия и селенита натрия на содержания *Hb* (а) и *MetHb* (б) в супернатантах эритроцитов в процессе центрифугирования

Fig. 2. Effect of sodium selenite and sodium nitrite on content of *Hb* (a) and *MetHb* (b) in the supernatants of erythrocytes depending on time of incubation, 37 °C

### Обсуждение результатов

Вследствие малых размеров и отсутствия заряда молекулы *NO*, образующиеся в содержащей эритроциты инкубационной среде при нитритном воздействии, легко проникают через мембраны эритроцитов и, соответственно, контактируют с *Hb* с образованием различных комплексов [12]. В модельных системах *NO* может нитризировать железо гема, включаться в гемоглобин в составе динитрозильного комплекса и образовывать нитрозотиол гемоглобина (*Hb-SNO*) [13–14]. Учитывая, что константа сродства окиси азота к атому железа порфирина значительно выше, чем у кислорода, *NO* успешно конкурирует с последним за связывание с гемоглобином [15]. Присоединение *NO* приводит к изменению конформации гемоглобина, и, как следствие,

снижению его сродства к кислороду [16]. Связывание молекулы *NO* с *SH*-группами цистеин-β93 также может влиять на сродство гемоглобина к кислороду и стабилизацию *T*-состояния (это состояние характеризуется низким сродством к кислороду) [17]. В конечном счете, нитриты стимулируют окислительную модификацию белка гемоглобина, т. е. образование *MetHb* и других продуктов ПОЛ. Факт значительного уменьшения активности каталазы на фоне некоторого увеличения активности ГП свидетельствует о том, что в эритроцитах, обработанных нитритом, идет интенсивное образование гидропероксидов, при котором исчерпываются ресурсы каталазы, в то же время ГП утилизирует гидропероксиды лишь в физиологических пределах [18].



Относительно малая степень интенсификации ПОЛ эритроцитов (50–70 %) под воздействием нитрита, наряду с его существенным окислительным воздействием на Hb (увеличение содержания *MetHb* в десятки раз), указывает на то, что образовавшийся в больших количествах *MetHb*, а возможно, и другие продукты взаимодействия нитритов (окиси азота) с гемоглобином, могут тормозить развитие реакций ПОЛ, т. е. выступать в роли АО [10]. Увеличение концентрации нитрита в инкубационной среде приводит к увеличению мембранного оксигемоглобина и *MetHb*. Все это способствует модификации протеиновых компонентов мембранного аппарата [11].

Касаясь АО действия селена, следует отметить, что по некоторым данным сам гемоглобин, являясь селенопротеином, нестехиометрично поглощает селен, в том числе замещая серу, предположительно локализованную в цистеин-β93 *Hb* [19] и оказывает определенный АО эффект [20; 21]. Характерно, что во

всех экспериментах внесенный в инкубационную среду селенит натрия в первые 30 мин активно включается в гемоглобиновую фракцию и, усиливая АО свойства гемоглобина, в той или иной мере ослабляет развитие индуцированного окислительного процесса, что отражается как на накоплении *MetHb*, так и продуктов ПОЛ. В нашем случае это позволяет считать, что включенный из инкубационной среды в молекулу гемоглобина селен локализуется, замещая серу, в проксимальном участке β-цепи в положении цистеина-93 в непосредственной близости к гему, а также, возможно, и в других SH-группах гемоглобина, подвергаемых атаке оксидом азота. Отсюда следует, что включенный в *Hb* селен и *NO*, оказываясь в непосредственной близости друг от друга, взаимно влияют на производимые ими эффекты, в том числе и окислительного характера.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Реутов В. П., Сорокина Е. Г., Каюшин Л. П. Участвуют ли нитритные ионы в регуляции систем внутри- и межклеточной сигнализации? // *Вопр. мед. химии.* – 1994. – Т. 40, № 6. – С. 31–35.
2. Hanafy K. A., Martin E., Murad F. CCTeta, a novel soluble guanylyl cyclase-interacting protein // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, № 45. – P. 46946–46953.
3. Yoshida K., Kasama K. Biotransformation of nitric oxide. // *Environ. Health Perspect.* – 1987. – Vol. 73. – P. 201–205.
4. Gladyshev V. N. Selenoproteins and selenoproteomes // *Selenium: Its molecular biology and role in human health* / Ed. D. L. Hatfield, M. J. Berry, V. N. Gladyshev. – Springer, 2006. – P. 101–112.
5. Szebeni J., Winterbourn C. C., Carrell R. W. Oxidative interactions between haemoglobin and membrane lipid. A liposome model // *Biochem. J.* – 1984. – Vol. 220, № 3. – P. 685–692.
6. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // *Лаб. Дело.* – 1986. – № 12. – С. 724–727.
7. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело.* – 1988. – Т. 64, № 3. – С. 16–17.
8. Mengel C. F., Kann H. E. Effect of in vivo hyperoxid of erythrocytes, III in vivo peroxidation of erythrocytes lipid. // *J. Nutr. Chemical Invest.* – 1966. – Vol. 45. – P. 1150–1159.
9. Худсон Д. Ж. Статистика для физиков. – М.: Мир, 1990. – 242 с.



10. **Widmer C. C. et al.** Hemoglobin can attenuate hydrogen peroxide induced oxidative stress by acting as an antioxidative peroxidase // *Antioxidants and Redox signalling*. – 2010. – Vol. 12, № 2. – P. 185–199.
11. **Low P. S.** Role of hemoglobin denaturation and band 3 clustering in initiating red cell removal // *Red Blood Cell Aging* / Eds M. Magnani, A. De Flora). – New York: Plenum Press, 1991. – P. 173–183.
12. **Реутов В. П., Сорокина Е. Г., Охотин В. Е., Косицин Н. С.** Циклические превращения NO в организме млекопитающих. – М.: Наука, 1998. – 159 с.
13. **Ванин А. Ф., Кубрина Л. Н., Лисовская И. Л., Маленкова И. В., Четвериков А. Г.** Эндогенные нитрозильные комплексы гемового и негемового железа в клетках и тканях. // *Биофизика*. – 1971. – Т. 16. – С. 650–658.
14. **Ванин А. Ф.** Динитрозильные комплексы железа эндогенные сигнальные агенты в клетках и тканях животных и человека (Гипотеза) // *Биофизика*. – 2004. – Т. 49, Вып. 4. – С. 581–568.
15. **Стародубцева М. Н., Черенкевич С. Н.** Механизмы реакций гемоглобина с пероксинитритом в водно-солевом растворе // *Изв. НАН Беларуси. Серия медико-биол. наук*. – 2003. – № 2. – С. 86–90.
16. **Hobbs A. I., Gladwin M. T., Patel R. P., Williams D. L. H., Butler A. R.** Haemoglobin: NO transporter, NO inactivator or none of the above // *TRENDS in Pharmacological Science*. – 2002. – Vol. 23. – P. 406–411.
17. **Bonaventura C.** Effects of S-Nitrosation on Oxygen Binding by Normal and Sickle Cell Hemoglobin // *Journal of Biological Chemistry*. – 1999. – Vol. 274, № 35. – P. 24742–24748.
18. **Чеснокова Н. П., Понукалина Е. В., Бизенкова М. Н.** Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах // *Успехи современного естествознания*. – 2006. – № 7. – С. 29–36.
19. **Millar K. P., Sheppard A. D., Gardiner M. A.** A comparison of the distribution of Se in proteins of blood, liver, and kidney from rats differing in selenium status // *N.Z.J. Agr. Res.* – 1972. – Vol. 15, № 4. – P. 756–777.
20. **Гусейнов Т. М., Яхьяева Ф. Р., Гулиева Р. Т.** Влияние селена на устойчивость гемоглобина к фотоокислительным процессам // *Украинский биохимический журнал*. – 2012. – Т. 84, № 2. – С. 53–60.
21. **Гусейнов Т. М., Яхьяева Ф. Р.** Селен как антиокислительный протектор в эритроцитах. – Saarbruken, Germany: Lambert Academic, 2014. – 134 p.



DOI: [10.15293/2226-3365.1605.15](https://doi.org/10.15293/2226-3365.1605.15)

Sevinc Yavus Huseynova, Research Associate, Institute of Physics, Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan.

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-5480-2680>

E-mail: [seva.gy7@mail.ru](mailto:seva.gy7@mail.ru)

Rugiya Tairaga Guliyeva, Senior Research Associate, Institute of Physics, Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan.

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3263-9306>

E-mail: [ruhiyya.guliyeva@yahoo.com](mailto:ruhiyya.guliyeva@yahoo.com)

Mursal Zubail Dadashov, PhD in Biology, Leading Researcher, Institute of Physics, Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan.

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-5480-2680>

E-mail: [mursald@mail.ru](mailto:mursald@mail.ru)

Ahverdi İsmail Jafarov, Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Institute of Physics, Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan.

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-5950-8891>

E-mail: [hagverdi.cafarov@yahoo.com](mailto:hagverdi.cafarov@yahoo.com)

Florida Radik Yahyaeva, PhD in Biology, Senior Research Associate, Institute of Physics, Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan.

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-0772-1241>

E-mail: [florida.r.yahyayeva@mail.ru](mailto:florida.r.yahyayeva@mail.ru)

Tokay Maharram Huseynov, Doctor of Biological Sciences, Head of Laboratory of Ecological Biophysics, Institute of Physics, Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan.

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8363-0141>

E-mail: [thuseynov@physics.ab.az](mailto:thuseynov@physics.ab.az)

## OXIDATIVE MODIFICATION OF HEMOGLOBIN OF ISOLATED RED BLOOD CELLS IN THE INCUBATION MEDIUM CONTAINING SODIUM NITRITE AND SODIUM SELENITE

### Abstract

*The article considers the influence of sodium nitrite and sodium selenite, with their joint and single effect on the processes of haemoglobin oxidation (Hb), lipid peroxidation (LPO), antioxidant (AO) enzymes – glutathione peroxidase (GP) and catalase in human erythrocytes in vitro. It was found that nitrites have a significant effect on the oxidative processes in red blood cells and Hb, and sodium selenite reduces the development of the nitritinducted oxidative processes in red blood cells and formation of methemoglobin (MetHb) by 25–40 %. Sodium nitrite, which significant influences on the oxidative processes of Hb, does not lead to a appreciable increase the POL in erythrocytes. Under the influence of nitrite a is undergoing minor changes of activity AO enzyme GP (20–30 %), while the catalase activity in all cases falls significantly (1.5–2 times). Nitrites in the incubation medium also lead*



to an increase in the concentrations of membrane binding oxyhemoglobin and MetHb and sodium selenite inhibits this process in the incubation medium.

#### Keywords

Sodium nitrite, sodium selenite, erythrocytes, met hemoglobin, glutathione peroxidase, catalase, lipid peroxidation, membrane binding hemoglobin

#### REFERENCES

1. Reutov V. P., Sorokina E. G., Kaiushin L. P. Do nitrite ions participate in regulating systems of intra- and intercellular signalling? *Problems of Medical Chemistry*. 1994, vol. 40, no. 6, pp. 31–35. (In Russian)
2. Hanafy K. A., Martin E., Murad F. CCTeta, a novel soluble guanylyl cyclase-interacting protein. *J. Biol. Chem.* 2004, vol. 279, no. 45, pp. 46946–46953.
3. Yoshida K., Kasama K. Biotransformation of nitric oxide. *Environ. Health Perspect.* 1987, vol. 73, pp. 201–205.
4. Gladyshev V. N. Selenoproteins and selenoproteomes. *Selenium: Its molecular biology and role in human health*. Ed. D. L. Hatfield, M. J. Berry, V. N. Gladyshev. Springer Publ., 2006, pp. 101–112.
5. Szebeni J., Winterbourn C. C., Carrell R. W. Oxidative interactions between haemoglobin and membrane lipid. A liposome model. *Biochem. J.* 1984, vol. 220, no. 3, pp. 685–692.
6. Moin V. M. Simple and specific method for determining the activity of glutathione peroxidase in erythrocytes. *Lab. Delo.* 1986, no. 12, pp. 724–727. (In Russian)
7. Korolyuk M. A. A method of measurement of catalase activity. *Lab. Delo.* 1988, vol. 64, no. 3, pp. 16–17. (In Russian)
8. Mengel C. F., Kann H. E. Effect of in vivo hyperoxid of erythrocytes, III in vivo peroxidation of erythrocytes lipid. *J. Nutr. Chemical Invest.* 1966, vol. 45, pp. 1150–1159.
9. Hudson D. J. *Statistics for Physicists*. Moscow, Mir Publ., 1990, 242 p. (In Russian)
10. Widmer C. C. et al. Hemoglobin can attenuate hydrogen peroxide induced oxidative stress by acting as an antioxidative peroxidase. *Antioxidants and Redox signalling*. 2010, vol. 12, no. 2, pp. 185–199.
11. Low P. S. Role of hemoglobin denaturation and band 3 clustering in initiating red cell removal. *Red Blood Cell Aging*. Eds M. Magnani, A. De Flora. New York, Plenum Press Publ., 1991, pp. 173–183.
12. Reutov V. P., Sorokina E. G., Ohotin V. E., Kosicin N. S. *Cyclic Conversion of Nitric Oxide in the Mammalian Body*. Moscow, Nauka Publ., 1998, 159 p. (In Russian)
13. Vanin A. F., Kubrina L. N., Lisovskaya I. L., Malenkova I. V., Chetverikov A. G. Endogenous nitrosyl complexes of heme and non-heme iron in cells and tissues. *Biophysics*. 1971, vol. 16, pp. 650–658. (In Russian)
14. Vanin A. F. Dinitrosyl iron complexes endogenous signaling agents in cells and tissues of animals and humans (hypothesis). *Biophysics*. 2004, vol. 49, issue 4, pp. 581–568. (In Russian)
15. Starodubtseva M. N., Cherenkevich S. N. The mechanisms of reactions between hemoglobin and peroxynitrite in the solution. *NAS of Belarus A series of medical and biological sciences*. 2003, no. 2, pp. 86–90. (In Russian)
16. Hobbs A. I., Gladwin M. T., Patel R. P., Williams D. L. H., Butler A. R. Haemoglobin: NO transporter, NO inactivator or none of the above. *TRENDS in Pharmacological Science*. 2002, vol. 23, pp. 406–411.



17. Bonavertura C. Effects of S-Nitrosation on Oxygen Binding by Normal and Sickle Cell Hemoglobin. *Journal of Biological Chemistry*. 1999, vol. 274, no. 35, pp. 24742–24748.
18. Chesnokova N. P., Ponukalin E. V., Bizenkov M. N. Molecular and cellular mechanisms of inactivation of free radicals in biological systems. *Medical sciences*. 2006, no. 7, pp. 29–36. (In Russian)
19. Millar K. P., Sheppard A. D., Gardiner M. A. A comparison of the distribution of Se in proteins of blood, liver, and kidney from rats differing in selenium status. *N.Z.J. Agr. Res.* 1972, vol. 15, no. 4, pp. 756–777.
20. Huseynov T. M., Yakhyayeva F. R., Guliyeva R. T. The effect of selenium on the stability of hemoglobin to photooxidative processes. *Ukrainian Biochemical Journal*. 2012, vol. 84, no. 2, pp. 53–60. (In Russian)
21. Huseynov T. M., Yakhyayeva F. R. *Selenium as an antioxidant protector in the erythrocytes*. Saarbruken, Germany, Lambert Academic Publ., 2014, p. 134. (In Russian)