

УДК 577.112:612

ЭНЗИМАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОТДЕЛЬНЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Ёлкина Н.М.¹, Коношенко С.В.²

¹Крымский факультет Запорожского национального университета, Симферополь, Украина;

²Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Украина

E-mail: nataleiolkina@gmail.com

Установлено, что в эритроцитах больных эритремией и апластической анемией (заболевания онкологического характера) существенно повышается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и каталазы. В эритроцитах больных железодефицитной анемией наблюдается незначительное повышение активности соответствующих энзимов на уровне тенденции.

Ключевые слова: эритроциты, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, глутатионредуктаза, каталаза, эритремия, апластическая анемия, железодефицитная анемия.

ВВЕДЕНИЕ

Выявление молекулярных основ различных заболеваний и патологических состояний организма человека является одной из проблем современной медицины и биологии [1-3]. Известно, что при многих заболеваниях нарушается прооксидантно-антиоксидантное равновесие, в результате чего интенсифицируются свободно-радикальные реакции и развивается окислительный стресс [1-4]. Это приводит к гиперпродукции активных форм кислорода (АФК), мишенью действия которых являются различные клетки и клеточные структуры, в том числе эритроциты [5].

Большое значение для поддержания в клетках прооксидантно-антиоксидантного баланса и внутриклеточного восстановительного потенциала имеют реакции, которые катализируют глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, глутатионредуктаза и каталаза. Учитывая это, представляло интерес изучить активность этих энзимов в эритроцитах при заболеваниях гематологического характера (эритремия, апластическая анемия и железодефицитная анемия), что и явилось целью настоящей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (20 человек) – доноров станции переливания крови г. Симферополя и больных: эритремией I стадии (9 человек), апластической анемией (11 человек) и железодефицитной анемией (9 человек). В каждой обследованной группе соотношение мужчин и женщин было приблизительно одинаковым. Возраст больных эритремией был, в среднем, 56 лет; возраст больных апластической

анемией – в среднем, 54,5 года; больных железодефицитной анемией – 54 года. Критерием для исключения из исследований были тяжелая артериальная гипертензия, декомпенсация легочно-сердечной недостаточности, наличие тяжелых форм аритмий. Кровь больных брали на базе Крымского онкологического центра при поступлении в стационар, до лечения.

Эритроциты гемолизировали по методу Драбкина [6]. В гемолизатах эритроцитов определяли активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [7], глутатионредуктазы [8] и каталазы [9], используя спектрофотометрические методы биохимического анализа. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты исследований, в гемолизатах эритроцитов больных эритремией и апластической анемией достоверно повышается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы: в 1,72 и 1,76 раза по сравнению с контрольной группой (таблица 1). В эритроцитах больных железодефицитной анемией активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы оставалась на уровне контрольной группы, проявлялась лишь тенденция к повышению данного показателя.

Повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах больных эритремией и апластической анемией представляет большой интерес, поскольку данный фермент катализирует «пусковую» реакцию пентозофосфатного пути превращения глюкозы, поставляющего восстановительные эквиваленты в форме НАДФН · Н⁺. В эритроцитах НАДФН · Н⁺ используется как кофактор, в основном, двумя ферментами: метгемоглобинредуктазой, обеспечивающей образование восстановленной формы гемоглобина, и глутатионредуктазой, катализирующей восстановление окисленного глутатиона [10]. Для эритроцитов эти восстановительные реакции имеют большое значение, так как предупреждают накопление функционально-инертной метформы гемоглобина и способствуют поддержанию оптимального уровня восстановленного глутатиона, необходимого для стабилизации, прежде всего, SH-ферментов, в активном центре которых имеется каталитически значимый остаток цистеина с реакционно-активной SH-группой [10].

Изучение активности глутатионредуктазы показало, что при эритремии и апластической анемии активность этого фермента в эритроцитах возрастает в 1,76 и в 1,77 раза, соответственно (таблица 1). В группе больных железодефицитной анемией активность эритроцитарной глутатионредуктазы практически не менялась (отмечено некоторое повышение показателя на уровне тенденции).

Обращает на себя внимание тот факт, что при эритремии и апластической анемии, заболеваниях онкологического характера, изменения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы являются не только однонаправленными, но и близкими по степени выраженности.

Это позволяет предположить, что повышение активности глутатионредуктазы в эритроцитах больных эритремией и апластической анемией обусловлено более интенсивным образованием кофактора фермента (НАДФН · Н⁺) за счет активизации реакции, катализируемой глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой. Подтверждением этого

ЭНЗИМАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОТДЕЛЬНЫХ...

является также расчет соотношения активности глутатионредуктазы и активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Для всех обследованных групп этот показатель установлен в пределах 2,23-2,37 (2,23 – контрольная группа; 2,28 – больные эритремией; 2,24 – больные апластической анемией; 2,37 – больные железодефицитной анемией).

Таблица 1

Активность глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в гемолизатах эритроцитов больных эритремией, апластической анемией и железодефицитной анемией (M ± m)

Обследованные группы	Активность глутатионредуктазы, нмоль·мин ⁻¹ ·мл ⁻¹	Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, нмоль·мин ⁻¹ ·мл ⁻¹
Контрольная группа	0,105 ± 0,013	0,047 ± 0,002
Больные эритремией	0,185 ± 0,018*	0,081 ± 0,005*
Больные апластической анемией	0,186 ± 0,02*	0,083 ± 0,007*
Больные железодефицитной анемией	0,128 ± 0,015	0,054 ± 0,004

Примечание: * – достоверность различия показателя по сравнению с контрольной группой (p < 0,05).

Таблица 2

Активность каталазы в гемолизатах эритроцитов больных эритремией, апластической анемией и железодефицитной анемией (M ± m)

Обследованные группы	Активность каталазы, ммоль·с ⁻¹ ·л ⁻¹
Контрольная группа	0,240 ± 0,040
Больные эритремией	0,475 ± 0,050*
Больные апластической анемией	0,430 ± 0,050*
Больные железодефицитной анемией	0,262 ± 0,030

Примечание: * – достоверность различия показателя по сравнению с контрольной группой (p < 0,05).

Наряду с глутатионредуктазой одним из наиболее значимых для эритроцитов антиоксидантных энзимов является каталаза, обеспечивающая разрушение пероксида водорода, вероятность образования которого достаточно высока в условиях высокого парциального давления кислорода [11].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при эритремии и апластической анемии изменяется каталазная активность эритроцитов (таблица 2). В группе больных эритремией активность каталазы в эритроцитах была в 2,0 раза выше по сравнению с контрольной группой, у больных апластической анемией активность энзима превышала уровень показателя контрольной группы в 1,8 раза. У больных железодефицитной анемией активность эритроцитарной каталазы практически не менялась.

Таким образом, можно предположить, что при эритремии и апластической анемии в эритроцитах осуществляются биохимические перестройки, направленные на поддержание восстановительного потенциала эритроцитов и имеющие компенсаторно-адаптивное значение.

Это должно способствовать усилению антиоксидантной защиты эритроцитов, предупреждать накопление АФК и развитие необратимых изменений, ведущих к полной утрате эритроцитами их структурных и функциональных свойств.

В отличие от эритроцитов больных эритремией и апластической анемией в эритроцитах больных железодефицитной анемией активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и каталазы сохраняется на уровне контрольной группы, что доказывает отсутствие в условиях данной патологии глубоких изменений внутриэритроцитарного метаболизма.

Остается открытым вопрос о том, какой механизм обеспечивает повышение активности внутриэритроцитарных энзимов в условиях патологии. Не исключено активизирующее воздействие на энзимы некоторых полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Эффекторная функция ПНЖК – представителей семейства ω_3 уже обсуждалась в литературе последних лет [12]. Возможен и другой механизм активизации энзимов, который связан с высвобождением отдельных фракций мембраносвязанных ферментов, в том числе ферментов антиоксидантной системы. Любой из этих механизмов может иметь позитивное значение для эритроцитов, реализующих компенсаторно-адаптивные процессы в направлении повышения антиоксидантной активности и своего восстановительного потенциала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что при эритремии и апластической анемии в эритроцитах существенно повышается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и каталазы. Изменение активности этих энзимов может быть направлено на поддержание восстановительного потенциала эритроцитов и иметь компенсаторно-адаптивное значение.
2. При железодефицитной анемии отмечено незначительное повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и каталазы в эритроцитах, что прослеживается на уровне тенденции.

Список литературы

1. Меньщиков Е.Б. Окислительный стресс при воспалении / Е.Б. Меньщиков, Н.К. Зенков // Усп. совр. биол. – 1997. – Т. 117, № 2. – С.155-169.

2. Rice-Evans C. Oxygen toxicity free radicals and antioxidants in human disease: biochemical indication in atherosclerosis premature neonates / C. Rice-Evans, V. Gopinathan // *Essays Biochem.* – 1998. – V. 29. – P. 57-63.
3. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии / Ю.А. Владимиров // *Биохимия.* – 2004. – Т. 69, вып. 1. – С. 5-7.
4. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // *Укр. біохім. журн.* – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5-18.
5. Новицкий В.В. Белковый спектр мембран эритроцитов у больных раком лёгкого и с опухолями головы и шеи / В.В. Новицкий, В.Е. Гольдберг, М.В. Колосова, Я.В. Булавина // *Бюл. exper. биол. и медиц.* – 1999. – Прил. 1. – С. 18-20.
6. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization of myoglobin and hemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // *Arch. Biochem.* – 1949. – V. 21. – P. 224-226.
7. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии / Г.А. Кочетов. – М.: Высшая школа, 1980. – 271 с.
8. Агабели Р.А. Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты / Р.А. Агабели. – Баку, 1989. – 120 с.
9. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова и др. // *Лаб. дело.* – 1988, № 1. – С. 16-19.
10. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека / У. Мак-Мюррей. – М.: Мир, 1980. – 368 с.
11. Атауллаханов Ф.И. Энергозависимые процессы и метаболизм аденилатов в эритроцитах человека / Ф.И. Атауллаханов, В.М. Витвицкий, С.В. Комарова и др. // *Биохимия.* – 1996. – Т. 61, № 2. – С. 266-274.
12. Коржов В.И. Влияние ω -3-полиненасыщенных жирных кислот на активность глутатионзависимых ферментов в цитозоле печени и эритроцитах крови крыс в норме и при экспериментальном хроническом бронхите / В.И. Коржов, В.Н. Жадан // *Укр. біохім. журн.* – 2003. – Т. 75, № 4. – С. 115-119.

Йолкіна Н.М. Ензимна активність еритроцитів за деяких гематологічних захворювань / Н.М. Йолкіна, С.В. Коношенко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 41-45.

Доведено, що в еритроцитах хворих на еритремію і апластичну анемію (захворювання онкологічного характеру) суттєво зростає активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази та каталази. В еритроцитах хворих на залізодефіцитну анемію спостерігається незначне підвищення активності відповідних ензимів на рівні тенденції.

Ключові слова: еритроцити, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, глутатіонредуктаза, каталаза, еритремія, апластична анемія, залізодефіцитна анемія.

Yolkina N.M. Enzymes activity of erythrocytes under some hematological diseases / N.M. Yolkina, S.V. Konoshenko // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 41-45.

It has been shown, that in erythrocytes of patients with erythraemia and aplastic anemia (oncological diseases) the activity of glucose-6-phosphate-dehydrogenase, glutathione-reductase and catalase is rised. In erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia the insignificant rising of corresponding enzymes activity is observed and it has the character of tendency.

Keywords: erythrocytes, glucose-6-phosphate-dehydrogenase, glutathione-reductase, catalase, erythraemia, aplastic anemia, iron-deficiency anemia.

Поступила в редакцію 21.04.2013 г.