

УДК 577.112:612

ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ ОТДЕЛЬНЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

*Елкина Н. М.¹, Коношенко С. В.², Казакова В. В.¹, Загноенко Н. Е.¹,
Мирмуминова З. М.³*

¹*Медицинская академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*

²*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*

³*ГБУЗ РК «Центр крови», Симферополь, Республика Крым, Россия*

E-mail: nataleiolkina@gmail.com

Показано, что при отдельных гематологических заболеваниях (эритремия, апластическая и железodefицитная анемия) в эритроцитах интенсифицируются гликолитические реакции, что может иметь определенное компенсаторное значение. Наиболее выраженные изменения изученных показателей гликолиза наблюдаются в эритроцитах больных эритремией и апластической анемией.

Ключевые слова: эритроциты, гликолиз, гексокиназа, фосфоенолпируват, АТФ, гематологические заболевания.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из задач современной биологии и медицины является выяснение биохимических изменений в организме человека при различных заболеваниях, а также изучение тех молекулярных механизмов, которые в условиях патологии направлены на поддержание функционального состояния внутриклеточных систем и всего организма в целом [1–3].

Эритроциты представляют определенный интерес для изучения в этом аспекте, поскольку могут вовлекаться в патологический процесс, изменяя свое структурное и метаболическое состояние [4–6].

Одним из основных видов метаболизма в эритроцитах является гликолиз – окисление глюкозы до лактата, что позволяет поддерживать уровень АТФ, необходимый для обеспечения энергозависимых процессов [7].

Несмотря на большое количество работ, посвященных изучению метаболического состояния эритроцитов при различных заболеваниях, недостаточно изученными в этом направлении остаются заболевания гематологического характера.

В связи с этим целью настоящей работы являлось изучение показателей гликолитического пути окисления глюкозы в эритроцитах при эритремии, апластической и железodefицитной анемии.

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (контрольная группа – 25 человек, средний возраст – 39,0 лет), а также больных эритремией (11 человек, средний возраст – 55,0 лет), апластической анемией (11 человек, средний возраст – 53,0 лет) и железодефицитной анемией (13 человек, средний возраст – 49,0 лет).

Кровь больных брали на базе Крымского онкологического центра (г. Симферополь) при поступлении в стационар, перед началом лечения, придерживаясь норм и принципов биоэтики.

Кровь практически здоровых людей брали на базе ГБУЗ РК «Центр крови» (г. Симферополь).

Эритроциты гемолизировали, добавляя равный объем дистиллированной воды [8]. В гемолизатах эритроцитов определяли активность гексокиназы [9], а также содержание фосфоенолпирувата (ФЕП) [10] и АТФ [10], используя спектрофотометрические методы количественного анализа.

Полученные данные обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно из литературы [7], гликолиз, конечным продуктом которого является лактат, обеспечивает эритроциты млекопитающих, в том числе и эритроциты человека, всей необходимой энергией, затрачиваемой, главным образом, на поддержание формы цитоскелета и активный транспорт ионов через эритроцитарную мембрану против градиента концентрации. Одним из показателей гликолитических реакций является активность гексокиназы – фермента, катализирующего первую «пусковую» реакцию гликолиза.

При изучении активности гексокиназы в эритроцитах больных и практически здоровых людей были полученные данные, представленные в таблице. Из этих данных видно, что активность изученного фермента в эритроцитах больных эритремией, апластической и железодефицитной анемией была достоверно выше по сравнению с контрольной группой. Так, в эритроцитах больных апластической анемией активность гексокиназы превышала показатель контрольной группы в 2,8 раза, у больных эритремией – в 2,4 раза и у больных железодефицитной анемией – в 1,9 раза. Наиболее выраженные изменения активности эритроцитарной гексокиназы отмечены у больных апластической анемией и эритремией.

Изучение количественного содержания в эритроцитах фосфоенолпирувата (макроэргического метаболита гликолиза) показало, что уровень ФЕП в эритроцитах больных также существенно выше по сравнению с контрольной группой доноров: в 4,0 раза – у больных апластической анемией, в 3,7 раза – у больных эритремией и в 3,5 раза – у больных железодефицитной анемией. Наиболее выраженные изменения данного показателя прослеживаются в эритроцитах больных апластической анемией и эритремией.

При изучении содержания в эритроцитах АТФ было установлено, что в условиях патологии данный показатель претерпевает существенные изменения. Во всех группах больных содержание АТФ в эритроцитах достоверно превышало показатель

контрольной группы: в 4,3 раза – у больных апластической анемии, в 2,96 раза – у больных эритремией и в 2,8 раза – у больных железодефицитной анемией.

Прослеживается хорошо выраженная согласованность в изменениях изученных показателей, особенно в изменении содержания ФЕП и активности гексокиназы.

Для оценки энергического баланса в эритроцитах рассчитывали соотношение содержания АТФ и ФЕП (АТФ/ФЕП), что позволяет получить определенное представление о соответствии генерирования АТФ в ходе гликолитических реакций и расходования на энергозависимые процессы. Как показали расчеты, для эритроцитов контрольной группы величина АТФ/ФЕП составила 1,1, для эритроцитов больных апластической анемией – 1,2, эритремией – 0,9 и железодефицитной анемией – также 0,9.

Таблица

Содержание ФЕП и АТФ и активность гексокиназы в гемолизате эритроцитов больных эритремией, апластической и железодефицитной анемией (M ± m)

Обследованные группы	Активность гексокиназы, нмоль·мин ⁻¹ ·мл ⁻¹	Содержание ФЕП, мг% Фн	Содержание АТФ, мг% Фн
Контрольная группа	0,66 ± 0,03	0,43 ± 0,02	0,48 ± 0,01
Больные эритремией	1,58 ± 0,08*	1,60 ± 0,1*	1,42 ± 0,10*
Больные апластической анемией	1,85 ± 0,09*	1,75 ± 0,15*	2,08 ± 0,13*
Больные железодефицитной анемией	1,25 ± 0,05*	1,50 ± 0,08*	1,35 ± 0,03*

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

Из этих данных можно сделать заключение о том, что уровень генерирования АТФ в эритроцитах больных в целом соответствует уровню эритроцитарных энергозатрат: с увеличением расходования АТФ возрастает скорость гликолитических реакций.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при эритремии, апластической и железодефицитной анемии в эритроцитах усиливаются реакции гликолитического пути утилизации глюкозы, что может иметь определенное компенсаторное значение. Следует отметить, что гликолиз поставляет эритроцитам не только АТФ, но и такой важный побочный продукт как 2,3-дифосфолицерат (2,3-ДФГ), являющийся изомером 1,3-ДФГ, другого (кроме ФЕП) макроэнергического метаболита гликолиза. В свою очередь, 2,3-ДФГ представляет собой аллостерический эффектор, который снижает сродство гемоглобина к кислороду и тем самым повышает эффективность передачи кислорода тканям [11].

Можно предположить, что интенсификация гликолитических реакций в эритроцитах при соответствующих гематологических заболеваниях может быть направлена не только на увеличение уровня АТФ, но и на повышение концентрации 2,3-ДФГ, тем самым способствуя стабилизации как эритроцитарного энергообмена, так и кислородо-транспортной функции гемоглобина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты исследований позволяют сделать следующие выводы:

1. В эритроцитах больных эритремией, апластической и железодефицитной анемией интенсифицируются гликолитические реакции, о чем свидетельствует увеличение активности гексокиназы, содержания макроэргического метаболита гликолиза фосфоенолпирувата и АТФ.
2. Прослеживается хорошо выраженная согласованность в изменениях содержания в эритроцитах больных фосфоенолпирувата и активности гексокиназы. Наиболее выраженные изменения изученных показателей гликолиза наблюдаются в эритроцитах больных апластической анемией и эритремией.
3. При всех изученных заболеваниях в эритроцитах поддерживается энергический баланс, при котором увеличение расходования АТФ сопровождается повышением интенсивности гликолитических реакций.

Список литературы

1. Дубинина Е. Е. Окислительная модификация белков плазмы крови у пожилых людей с сосудистой деменцией / Е. Е. Дубинина, П. В. Коновалов, И. Б. Солитернова и др. // Укр. биохим. ж. – 2001. – Т. 173, № 1. – С. 125–132.
2. Milei J. Relationship between oxidative stress, lipid peroxidation and ultrastructural damage in patients with coronary artery disease undergoing cardioplegic arrest / J. Milei, P. Forcada, C. Fraga et al // *Cardiovasc. Res.* – 2007. – V. 73, N 4. – P. 626–628.
3. Луцкий М. А. Формирование окислительного стресса как одного из звеньев сложного патогенеза социально-значимых заболеваний нервной системы – инсульта и рассеянного склероза / М. А. Луцкий, А. М. Земсков, М. А. Смелянец и др. // *Фундаментальные исследования.* – 2014. – № 10. – С. 27–32.
4. Novgorodtseva T. P. Modifications of the fatty acid composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases / T. P. Novgorodtseva, Y. K. Denisenko, N. N. Zhukova et al // *Lipids Health Dis.* – 2013, N 12. – P. 117–121.
5. Елкина Н. М. Процессы пероксидации липидов, метгемоглобинообразования и генерирования активных форм кислорода в эритроцитах больных эритремией / Н. М. Елкина // *Уч. записки Таврического нац. ун-та им. В.И. Вернадского.* – Сер.: Биология, химия. – 2013. – Т. 26 (65), № 4. – С. 39–43.
6. Коношенко С. В. Особливості окиснювальної модифікації протеїнів в еритроцитах хворих на кардіоміопатію, ішемічну хворобу серця, еритремію та апластичну анемію / С. В. Коношенко, Н. М. Йолкіна // *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія.* – 2013. – № 2. – С. 40–43.
7. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека / У. Мак-Мюррей. – М.: Мир, 1980. – 368 с.
8. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization myoglobin and haemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // *Arch. Biochem.* – 1959. – V. 21. – P. 224–226.

9. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии / Г. А. Кочетов. – М.: Высшая школа, 1980. – 271 с.
10. Алейникова Т. Л. Руководство к практическим занятиям по биологической химии / Т. Л. Алейникова, Г. В. Рубцова. – М.: Высшая школа, 1988. – 238 с.
11. Биохимия / под ред. С. Е. Северина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 768 с.

THE INDEXES OF GLUCOSE METABOLISM IN ERYTHROCYTES UNDER SOME HAEMATOLOGICAL DISEASES

*Yolkina N. M.¹, Konoshenko S. V.¹, Kazakova V. V.¹, Zagnoenko N. E.¹,
Mirmuminova Z. M.²*

¹*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation*

²*GBUZ RC "Centre of blood", Simferopol, Crimea, Russian Federation*

E-mail: nataleiolkina@gmail.com

Today we have much dates about that under some diseases erythrocytes are involved in pathological process as demonstrated by biochemical changes occurring in them [1–3].

In this regard, it is interest to examine the biochemical state of erythrocytes under some haematological diseases, that was the aim of our work.

The materials for the study were the erythrocytes of healthy subjects (control group) and patients with erythraemia (11 persons, middle age 55,0 years), aplastic anemia (11 persons, middle age 53,0 years) and iron-deficiency anemia (13 persons, middle age 49,0 years). The blood of patients with diseases was taken before treatment for an illness.

The erythrocytes were hemolysated by distilled water. In hemolysates of erythrocytes the activity of hexokinase [4] and content of phosphoenolpiruvate [5] and ATP [5] were determined. All indexes were studied by spectrophotometric methods of biochemical analyses.

It has been shown, that in hemolysates of erythrocytes at all groups of patients the activity of hexokinase and content of phosphoenolpiruvate and ATP are rised as compared with control group. So, the activity of hexokinase in erythrocytes of patients was rised: at 2,8 times under aplastic anemia, at 2,4 times under erythraemia and at 1,9 times under iron-deficiency anemia. The content of phosphoenolpiruvate was rised: at 4,0 times under aplastic anemia, at 3,7 times under erythraemia and at 3,5 times under iron-deficiency anemia. The content ATP in erythrocytes of patients was rised at 4,3 times under aplastic anemia, at 2,96 times under erythraemia and at 2,8 times under iron-deficiency anemia, accordingly.

The obtained dates evidence about that in erythrocytes of patients with aplastic anemia, erythraemia and iron-deficiency anemia the glycolitic reactions are intensified and these changes may have compensatoric sense.

The analysis of obtained dates shows that in erythrocytes of patients with haematological diseases the energetic balance is rimained. It means that with increasing of expenditure of ATP the intensivity of glycolytic reactions in erythrocytes is rised.

Accounty, that glycolytic reactions in erythrocytes are connected with formation of 2,3-diphosphoglycerate (allosteric effector of haemoglobin [6]) it may be assumed that intensification of glycolytic reactions in erythrocytes under pathology leads to changes of oxygen-transport function of haemoprotein.

The connection of biochemical changes in erythrocytes of patients with type of pathology is observed.

Keywords: erythrocytes, glycolysis, hexokinase, phosphoenolpyruvate, ATP, haematological diseases.

References

1. Yolkina N. M., Processes of lipids peroxide, methaemoglobin formation and oxygen active forms generation in erythrocytes of patients with erythraemia, *Sc. notes of V.I. Vernadsky Taurida university, Biology and Chemistry*, **26 (65), 4**, 39 (2013).
2. Konoshenko S. V., Yolkina N. M., Peculiarities of proteins oxidative modification in erythrocytes of patients with cardiomyopathies, ischemic heart disease, erythraemia and aplastic anemia, *Experimental and clinical physiology and biochemistry*, **2**, 40 (2013).
3. Novgorodtseva T. P., Denisenko Y. K., Zhukova N. N., Modifications of the fatty acid composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases, *Lipids Health Dis.*, **12**, 117 (2013).
4. Kochetov G. A., *Enzymology practical textbook*, 271 (Moscow, 1980).
5. Alejnikova T. L., Rubtsova G. V., *Textbook for biochemistry practice*, 238 (Moscow, 1988).
6. Severin S. E., *Biochemistry*, 768 (Moscow, 2015).