

**УДК 517.121:963**

## **ЭНЗИМАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

*Ёлкина Н.М.<sup>2</sup>, Коношенко С.В.<sup>1</sup>, Шашуа Илиас<sup>1</sup>, Жугина О.В.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина*

<sup>2</sup>*Крымский факультет Запорожского национального университета, Симферополь, Украина*  
*E-mail: konoshenko@crimea.edu*

Показано, что при ишемической болезни сердца, в условиях развития окислительного стресса в эритроцитах возрастает активность ферментов, катализирующих «пусковые» реакции гликолиза и пентозофосфатного пути утилизации глюкозы (гексокиназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы), а также активность глутатионредуктазы. Отмеченные изменения в активности отдельных эритроцитарных ферментов могут иметь компенсаторное значение.

**Ключевые слова:** эритроциты, гексокиназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, глутатионредуктаза, ишемическая болезнь сердца, окислительный стресс.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Выяснение 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, что ведет к интенсификации свободно-радикальных реакций, усиленному генерированию активных форм кислорода (АФК) и их влиянию на клеточные структуры [4, 5].

Однако, несмотря на большое количество работ, выполненных в этом аспекте, до сих пор остаются не решенными вопросы, касающиеся характера повреждающего действия АФК на разные по уровню организации клетки и молекулярные системы, в том числе ферментные, а также выяснение возможности развития в условиях окислительного стресса компенсаторных реакций, направленных на поддержание клеточного гомеостаза.

В связи с этим, целью настоящей работы было изучение активности отдельных ферментов в эритроцитах больных ишемической болезнью сердца в условиях развития окислительного стресса.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Материалом для исследований служили эритроциты больных ишемической болезнью сердца (25 человек) в возрасте от 45 до 55 лет и 25 практически здоровых людей (контрольная группа).

Гемолиз эритроцитов осуществляли по методу Драбкина [6]. Содержание ТБК-активных продуктов (вторичные продукты перекисидации липидов) в гемолизатах определяли по интенсивности поглощения при 532 нм [7] и выражали в усл. ед. мг<sup>-1</sup> липидов. Общие липиды определяли по методу [8]. Активность гексокиназы определяли спектрофотометрическим методом, используя индикатор крезоловый красный [9]. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы определяли спектрофотометрическим методом, основанным на образовании восстановленной формы НАДФ [10].

Активность глутатионредуктазы определяли спектрофотометрически, оценивая образование окисленной формы НАДФ [10]. Полученные данные обрабатывали статистически, используя t-критерий Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По имеющимся в литературе данным ишемическая болезнь сердца относится к заболеваниям с развивающимся окислительным стрессом [4]. Это подтверждается так же данными наших исследований. Так, было показано, что в эритроцитах больных ишемической болезнью сердца усиливаются реакции перекисидации липидов, о чем свидетельствует достоверное увеличение содержания в гемолизатах ТБК-активных продуктов ПОЛ: в 1,8 раза по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Таблица 1

Содержание ТБК-активных продуктов перекисидации липидов в гемолизатах эритроцитов больных ишемической болезнью сердца ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )

Показатель	Обследованные группы	
	Контрольная группа	Больные ишемической болезнью сердца
ТБК-активные продукты ПОЛ, усл. ед. мг <sup>-1</sup> липидов	0,020 ± 0,002*	0,036 ± 0,004*

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

На фоне интенсификации процессов ПОЛ наблюдалось изменение активности отдельных эритроцитарных ферментов: гексокиназы, глюкозо-6-фосфотдегидрогеназы и глутатионредуктазы (табл. 2). Активность гексокиназы, катализирующей первую "пусковую" реакцию гликолиза, в эритроцитах больных была, в среднем, в 2 раза выше по сравнению с контрольной группой доноров, что может свидетельствовать об активизации гликолитического пути утилизации глюкозы в эритроцитах в условиях данной патологии. Из литературы известно [11], что гликолиз обеспечивает эритроциты энергией, а также восстановительными эквивалентами в форме НАДН и, что имеет немаловажное значение, побочным

продуктом – 2,3-дифосфоглицератом, важным регуляторным фактором кислородо-транспортной функции гемоглобина.

Вместе с этим, показана более высокая активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, катализирующей "пусковую" реакцию пентозофосфатного пути использования глюкозы (в 1,7 раза выше по сравнению с контрольной группой). Этот факт так же представляет интерес, поскольку первые две реакции пентозофосфатного пути обеспечивают эритроциты восстановленной формой НАДФ, что имеет большое значение для обеспечения процессов восстановления метгемоглобина и окисленной формы глутатиона [11].

Таблица 2

**Активность гексокиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы в гемолизатах эритроцитов больных ишемической болезнью сердца ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )**

Показатель	Обследованные группы	
	Контрольная группа	Больные ишемической болезнью сердца
Активность гексокиназы, нмоль·мин <sup>-1</sup> ·мл <sup>-1</sup>	0,66 ± 0,03	1,36 ± 0,03*
Активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, нмоль·мин <sup>-1</sup> ·мл <sup>-1</sup>	0,047 ± 0,002	0,08 ± 0,02*
Активность глутатионредуктазы нмоль·мин <sup>-1</sup> ·мл <sup>-1</sup>	0,105 ± 0,013	0,208 ± 0,010*

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

Увеличение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах больных сочеталось с увеличением активности окисленной формы глутатиона (в 2,0 раза по сравнению с контрольной группой). Отмеченная связь в изменении активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы может быть объяснена тем, что глутатионредуктаза использует в качестве кофермента восстановленный НАДФ, который образуется в реакциях пентозофосфатного пути [12].

Повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы в целом должно быть направлено на поддержание в эритроцитах оптимального уровня восстановленной формы глутатиона, что является важным условием для сохранения активности ряда эритроцитарных ферментов и постоянства внутриэритроцитарной среды [11].

Таким образом, в результате развития окислительного стресса в эритроцитах больных ишемической болезнью сердца изменяется активность отдельных ферментов, катализирующих "пусковые" реакции гликолиза и пентозофосфатного пути утилизации глюкозы, а также активность одного из антиоксидантных

ферментов – глутатионредуктазы. Отмеченные изменения в активности изученных ферментов могут быть направлены на поддержание в эритроцитах оптимального уровня макроэргических субстратов (гликолиза), восстановленной формы НАДФ (пентозофосфатный путь) и глутатиона, функционального состояния эритроцитов и иметь определенное компенсаторное значение.

### ВЫВОДЫ

1. Развитие окислительного стресса при ишемической болезни сердца сопровождается интенсификацией гликолитических реакций в эритроцитах, о чем свидетельствует увеличение активности гексокиназы, катализирующей первую "пусковую" реакцию гликолиза.
2. Вместе с этим, в эритроцитах больных ишемической болезнью сердца увеличивается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, катализирующей первую реакцию пентозофосфатного пути, поставляющего эритроцитам восстановленную форму НАДФ.
3. Отмеченные изменения в активности эритроцитарных ферментов, катализирующих "стартовые" реакции метаболизма глюкозы, сочетаются с увеличением активности в эритроцитах глутатионредуктазы, что в целом может иметь определенное компенсаторное значение.

### Список литературы

1. Афанасьев А.Н. Сравнительная оценка уровня эндогенной интоксикации у лиц разных возрастных групп / А.Н. Афанасьев // Клин. лаб. диагн. – 2004, № 6. – С. 11-13.
2. Ивашов В.А. Состояние отдельных биохимических показателей эритроцитов в норме и при хроническом посттравматическом остеомиелите / В.А. Ивашов, С.В. Коношенко // Учёные записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – 2008. – Т. 21 (60), № 2. – С. 46-49.
3. Новицкий В.В. Белковый спектр мембран эритроцитов у больных раком лёгких и опухолями головы и шеи / В.В. Новицкий, К.Г. Корешкова, Е.А. Степовая [и др.] // Бюллетень эксперим. биологии и медицины. – 1999. Т. 127, – прилож. 1. – С.18-20.
4. 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.
5. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков: окисление триптофана и образование битирозина в очищенных белках с использованием системы Фентона / Е.Е. Дубинина, С.В. Гавровская, Е.В. Кузьмич [и др.] // Биохимия. – 2002. – Т. 67, вып. 3. – С. 413-421.
6. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization of myoglobin and haemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // Arch. Biochem. – 1949. – V. 21 – P. 224-226.
7. Ohkawa H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yogi // Analit. biochem. – 1979. - V. 95. – P. 351-358.
8. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. Покровского А.А. – М.: Медицина, 1969. – С. 287-288.
9. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии / Г.А. Кочетов – М.: Высшая школа, 1980. – 271 с.
10. Агабели Р.А. Определение активности глутатионредуктазы / Р.А. Агабели – Баку, 1989. – 120 с.
11. Мак-Мюррей У. Обмен веществ человека / У. Мак-Мюррей – М.: Мир, 1980. – 366 с.
12. Николаев А.Я. Биологическая химия. / А.Я. Николаев – М.: МИА, 2009. – 565 с.
13. Шаповал Г.С. Механизмы антиоксидантной защиты при действии активных форм кислорода / Г.С. Шаповал, В.Ф. Громова // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75, № 2. – С. 5-11.

**Йолкіна Н.М.** Ензиматична активність еритроцитів людини при ішемічній хворобі серця за умов розвитку окиснювального стресу / Н.М. Йолкіна, С.В. Коношенко, Іліас Шашуа, О.В. Жугіна // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 124-128.

Показано, що при ішемічній хворобі серця, за умов розвитку окиснювального стресу в еритроцитах зростає активність ферментів, які каталізують «пускові» реакції гліколізу та пентозофосфатного шляху утилізації глюкози (гексокіназа і глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа), а також активність глутатіонредуктази. Зазначені зміни в активності окремих еритроцитарних ферментів можуть мати компенсаторне значення.

**Ключові слова:** еритроцити, гексокіназа, глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа, глутатіонредуктаза, ішемічна хвороба серця, окиснювальний стрес.

**Yolkina N.M.** The enzymatic activity of human erythrocytes under ischemic heart disease in the conditions of oxidative stress / N.M. Yolkina, S.V. Konoshenko, Ilias Shashua, O.V. Zhugina // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 124-128.

It has been shown that under ischemic heart disease in the conditions of oxidative stress the activity of enzymes in erythrocytes that catalysing “trigger” reactions of glycolysis and pentose phosphate pathway is risen. At the same time the activity of glutathionereductase is risen also. The changes of activity of some enzymes in erythrocytes may have the compensatoric significance.

**Keywords:** erythrocytes, hexokinase, glucose-6-phosphate-dehydrogenase, glutathione-reductase, ischemic heart disease, oxidative stress.

*Поступила в редакцію 17.05.2011 г.*