

*М.В.Шаплавський, І.К.Владковський, А.І.Гоженко*

## ЕНЕРГООБМІН ЕРИТРОЦИТІВ ПРИ ДІЇ ЕЛЕКТРОСТАТИЧНОГО ЗАРЯДУ

Кафедра госпітальної терапії та клінічної фармакології (зав. – проф. М.Ю. Коломоєць)  
Буковинської державної медичної академії

**Резюме.** При порівнянні дії електростатичного заряду пластикових пробірок фірми Gilson без покриття з впливом біоінертного покриття виявлено підсилення катаболізму в еритроцитах зі специфічними змінами активності лактатдегідрогенази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і особливо  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФ-ази. Реалізація цих змін в умовах автологічної плазми *in vitro* свідчить про їх специфічність.

**Ключові слова:** еритроцити, енергообмін, мембранні АТФ-ази, біоінертність, мікроциркуляція.

**Вступ.** За нашими попередніми дослідженнями, еритроцити здатні змінювати поверхневий заряд в умовах стабільного рН крові [5]. М. Kodicek et al. [10] доведено, що напруга зсуву крові нативної плазми (на відміну від штучних розчинів) провокує зміну енергообміну еритроцитів. Очевидно, існують механізми трансформації фізичної енергії, що впливає на кров, у хімічну на рівні метаболізму еритроцитів. Аналіз біологічної спрямованості цих явищ дає змогу визначити роль еритроцитів у процесах мікроциркуляції, адже зміни енергообміну еритроцитів обумовлюють їх реологічні параметри [8, 10], динаміку поверхневого заряду [5].

**Мета дослідження.** Вивчити вплив електростатичного заряду на енергообмін еритроцитів *in vitro* в умовах нативної автологічної плазми.

**Матеріал і методи.** Проведено порівняльне дослідження деяких показників енергообміну еритроцитів донорської крові (при заборі використовувалася гліоцир у співвідношенні 1:4), що зберігалася при 4°C у пластикових пробірках фірми Gilson без покриття (біоактивна оболонка) та з покриттям біоінертним матеріалом БМІІ (біоінертна оболонка). Герметизована кров (336 проб) зберігалася у рухомому режимі. Забір проб проводився під захистом азоту через 2, 18 та 36 діб [5].

З метою оцінки стану енерго-пластичного комплексу еритроцитів визначали вміст глюкози (за допомогою ортотолуїдинового методу) і лактату (за V. Rollingoff) у плазмі крові. Досліджували також активність лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (КФ 1.1.1.49), глутатіонредуктази (КФ 1.6.4.2) [6]. Співвідношення вмісту АТФ у еритроцитах (мкмоль/г Нв), що зберігались у біоінертному і звичайному посуді, визначалося з використанням набору реактивів фірми Boehringer Mannheim. АТФ-азну активність еритроцитів (МО/г Нв) досліджували за методом Є.В. Макаренко з використанням в інкубаційній суміші компонентів ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$  та  $\text{MgCl}_2$ ), що активують  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФ-азу (КФ 3.6.1.3) [3].

**Результати дослідження та їх обговорення.** При аналізі результатів дослідження (рис.) встановлено підвищення гліколітичної активності еритроцитів крові, яка знаходилася у легкополярзованому посуді, про що свідчить зниження рівня глюкози та накопичення лактату в плазмі. Такі зміни, ймовірно, є наслідком підсилення метаболізму в еритроцитах при зберіганні крові [9]. Варто зазначити, що на початку дослідження відмінності вмісту глюкози у плазмі були невірогідними, на відміну від лактату, рівень якого був вищим за відсутності біоінертної впродовж всього періоду спостереження. Очевидно, активація метаболізму еритроцитів пов'язана з першочерговою мобілізацією 2,3-дифосфогліцерату.

За відсутності біоінертної активації активується дихотомічний шлях розпаду глюкози в еритроцитах (збільшувалась активність лактатдегідрогенази) за одночасного пригнічення апотомічного циклу (зменшувалась активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази). Ймовірно, цей процес пов'язаний з підвищенням активності глутатіонредуктази, зміни якої впродовж всього періоду спостереження відбувалися паралельно до змін активності лактатдегідрогенази. Зниження активності зазначених ферментів на тлі зменшення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази може свідчити про послаблення механізмів компенсації внаслідок вищої активності кисню за умов відсутності біоінертного покриття. Це підтверджується зниженням гемолітичної стійкості еритроцитів при недостатності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [1,2], а також єдністю шляхів утилізації відновлених форм НАД і НАДФ, що генеруються гліколізом і пентозним циклом відповідно [4].

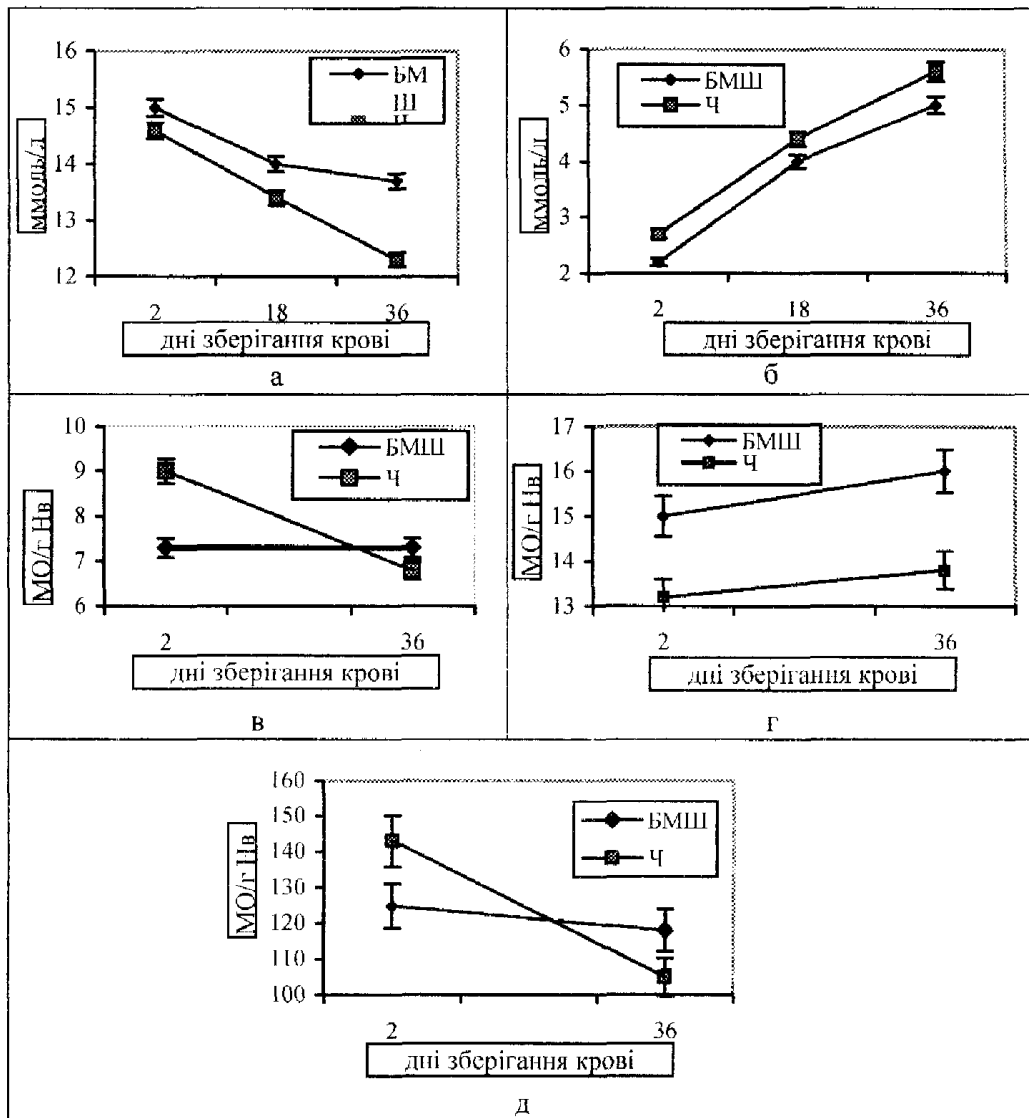


Рис. Динаміка вмісту глюкози (а) і лактату (б) у плазмі крові; активності глутатіонредуктази (в), глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (г), лактатдегідрогенази (д) в еритроцитах крові, що зберігалася в пробірках із біоінертним покриттям (БМШ) і без нього (Ч).

Рівень АТФ і активність АТФ-ази еритроцитів за наявності та відсутності біоінертизації зменшувалися впродовж всього періоду спостереження. Але на 36-й день перший був вищим у біоінертизованих пробірках ( $3,87 \pm 0,29$  проти  $2,07 \pm 0,32$  мкмоль/г Нв), а друга – у звичайному посуді ( $1,204 \pm 0,056$  проти  $0,357 \pm 0,050$  МО/г Нв).

Незважаючи на те, що активність АТФ-ази лімітується лише вмістом АТФ у еритроцитах [7, 11], ми не схильні вважати, що субстратне регулювання є превалюючим над усіма іншими факторами, зокрема алостеричними, оскільки за високої активності зазначеного фермента встановлено підвищення концентрації  $\text{Na}^+$  в еритроцитах. Варто також враховувати здатність еритроцитів, на відміну від усіх інших клітин, накопичувати АТФ [5]. Біологічна суть цього явища до теперішнього часу залишається нев'ященою.

Таким чином, підсилення метаболічної активності еритроцитів під впливом електростатичного заряду на кров *in vitro* супроводжується зменшенням ресурсу АТФ внаслідок енергоутилізації через підвищення активності мембранної  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФ-ази. Щодо субстратного регулювання, не виключено, що саме зменшення рівня АТФ у еритроцитах за цих умов призводить до підсилення утилізації глюкози.

#### Висновки.

1. Електростатичний заряд призводить до збільшення активності мембранної  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  АТФ-ази з наступним підсиленням метаболізму еритроцитів.

2. Реалізація впливу електростатичного заряду в умовах нативної плазми підтверджує наявність специфічних трансформаторів цього імпульсу, а сам процес є біологічним за своєю природою.

**Література.** 1. Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Жаботинский П.М. и др. Метаболические изменения, ведущие к окислительному лизису эритроцитов, поддерживаемых в нормальном состоянии in vitro // Биохимия. – 1986. – Т. 51, № 9. – С. 1562–1570. 2. Ермакова Т.А., Токарев Ю.И., Колодей С.В. и др. Устойчивость эритроцитов разного возраста к окислению у лиц с наследственным дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы // Гематол. и трансфузиол. – 1989. – Т. 34, № 3. – С. 45–48. 3. Макаренко Е.В. АТФ-азная активность эритроцитов при хронических заболеваниях печени и желудка // Лаб. дело. – 1987. – № 2. – С. 14–17. 4. Сторожук П.Г., Скляр В.А., Быков И.М. Изменения активности глицеральдегидфосфатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах в зависимости от утилизации глюкозы // Вопр. мед. химии. – 1988. – Т. 34, № 5. – С. 93–96. 5. Шаплавський М.В. Біоінертизація як біологічна функція. – Чернівці: Прут, 1996. – 184 с. 6. Beutler E., Blume K.G., Kaplan J.S. et al. International Committee for Standardization in Haematology: Recommended Methods for red-cell enzyme Analysis // Brit. J. Haematol. – 1977. – № 35. – P. 331-340. 7. Flatman P.V. The effects of metabolism on Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> co-transport in ferret red cells // J. Physiol. – 1991. – V. 437. – P. 495-510. 8. Glaser R., Donath J. Temperature and transmembrane potential dependence of shape transformations of human erythrocytes: [Pap.] EMP Symp. High Frequency Electromagnetic Field and Eff. Biol. Syst., Braunschweig, 9-10 Juli, 1991 // Bioelectrochem. And Bioenerg. – 1992. – V. 27, № 3. – P. 429-440. 9. Hogman C.F., Verdier C.-H., Borstrom L. Studies on the mechanism of human red cell loss of viability during storage at 4°C. II. Relation between cellular morphology and viability // Vox. Sang. – 1987. – V. 52, № 1-2. – P. 20-23. 10. Kodicek M., Mircevska L., Marek T. Energy requirements of erythrocytes under mechanical stress // Biomed. Biochim. Acta. – 1987. – V. 46, № 2-3. – P. 103-107. 11. Miseta A., Somoskeoy S., Galambos C. et al. Human and dog erythrocytes: relation between cellular ATP levels, ATP consumption and potassium concentrations // Physiol. Chem. And Phys. Med. NMR. – 1992. – V. 24, № 1. – P. 11–20.

## ERYTHROCYTIC ENERGY EXCHANGE UNDER THE ACTION OF AN ELECTROSTATIC CHARGE

*M.V. Shaplavskiy, I.K. Vladkovskiy, A.I. Gozhenko*

**Abstract.** An augmentation of erythrocyte catabolism with specific changes of the activity of lactate dehydrogenase, glutathione reductase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and, especially, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATP-ase were detected after comparing the electrostatic charge action of plastic test tubes produced by the Gilson firm without covering with influence of bioinert covering. Realization of these changes under conditions of autologous plasma in vitro is a confirmation of their specificity

**Key words:** erythrocytes, energy exchange, membrane ATP-ases, bioinertness, microcirculation.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 19.07.2002 року