

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОЗ'ЯЗКУ МІЖ ЛІГАНДНИМИ ФОРМАМИ ГЕМОГЛОБІНУ ТА ЙОГО ПЕРОКСИДАЗНОЮ АКТИВНІСТЮ В ЕРИТРОЦИТАХ ЛЮДИНИ

Семенець В. В., Тарадіна Г. В.

Донецький національний університет імені Василя Стуса, Вінниця, Україна
h.taradina@donnu.edu.ua

Пероксидазна активність гемоглобіну розглядається не лише як побічна властивість білка, а й як важливий механізм регуляції окисно-відновного балансу еритроцитів та індикатор структурних змін молекули, що впливають на її окиснювальну активність. Метою роботи було дослідити вміст лігандних форм гемоглобіну та рівень його пероксидазної активності в цитоплазматичній і мембранозв'язаній фракціях еритроцитів, а також оцінити взаємозв'язок між співвідношенням окси-, мет- та дезоксигемоглобіну і швидкістю пероксидазної реакції.

У дослідженні використовували свіжу донорську кров осіб приблизно однієї вікової групи. Еритроцити фракціювали з виділенням цитоплазматичного гемоглобіну та мембранозв'язаної фракції. Вміст лігандних форм визначали спектрофотометрично в діапазоні 500–700 нм із використанням розрахункових формул на основі оптичної густини при характерних довжинах хвиль [1]. Пероксидазну активність оцінювали за швидкістю окиснення р-фенілендіаміну в присутності пероксиду водню, реєструючи кінетику реакції протягом перших хвилин інкубації.

Отримані результати показали, що у цитоплазматичній фракції переважає оксигемоглобін ($90 \pm 3,5\%$), що відповідає його фізіологічній ролі у транспортуванні кисню. Частка метгемоглобіну в цитоплазматичній фракції залишалася відносно низькою та коливалася від 0,46 % до 12,8 %, тоді як у мембранозв'язаній фракції його вміст був значно вищим, варіюючи від 11,17 % до 55,67 %. Дезоксигемоглобін у цитоплазмі не перевищував 8 %, проте в мембранній фракції в окремих зразках досягав майже 29 %. Значення пероксидазної активності у цитоплазматичній фракції варіювали від 3,14 до 14,2 мкМ/хв/мкМ; у мембранозв'язаній фракції коливалися від 2,89 до 12,69 мкМ/хв/мкМ Нб, демонструючи значну індивідуальну варіабельність функціонального стану еритроцитів. Аналіз співвідношення лігандних форм показав нелінійний характер залежності між часткою окси- та метгемоглобіну і рівнем пероксидазної активності. У зразках із підвищеним вмістом метгемоглобіну та дезоксигемоглобіну часто реєстрували зростання активності, однак чіткої прямої кореляції не виявлено. Це узгоджується з сучасними уявленнями про складну регуляцію псевдопероксидазного циклу гемоглобіну, в якому різні лігандні стани можуть по-різному впливати на кінетику утворення високоокиснених інтермедіатів. Дезоксигемоглобін сам по собі не каталізує пероксидазну реакцію, проте його присутність змінює загальний баланс форм Нб і, відповідно, реакційну здатність системи. Отже, перерозподіл лігандних форм гемоглобіну між цитоплазматичною та мембранозв'язаною фракціями супроводжується змінами його пероксидазної активності, а варіабельність показників і нелінійна залежність між формами Нб та швидкістю реакції свідчать про складну регуляцію редокс-процесів. Пероксидазна активність гемоглобіну може слугувати функціональним маркером оксидативного стану еритроцитів і перспективним об'єктом подальших досліджень.

1. Dotsenko O. I., Mykutska I. V., Taradina G. V., Boiarska Z. O. Potential role of cytoplasmic protein binding to erythrocyte membrane in counteracting oxidative and metabolic stress. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2020. Vol. 11, No. 3. P. 455–462. DOI: <https://doi.org/10.15421/022070>