

Патогенетичні механізми змін енергетичного обміну еритроцитів у донорів крові

Ю.Ю. Дерпак, С.В. Видиборець

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

У статті наведені результати визначення вмісту 2,3-дифосфогліцерату, АТФ, АДФ, АМФ в еритроцитах периферійної венозної крові донорів крові.

Обстежено 92 донори віком від 20 до 55 років (48 чоловіків та 44 жінок). Серед них 39 осіб (21 чоловік та 18 жінок) здійснювали донорство уперше в житті – вони склали I групу спостереження (контрольна група), та 53 донори (27 чоловіків та 26 жінок) були постійними донорами зі стажем донорства більше двох років і здійснювали понад дві-три донорські щорічно – вони склали II групу спостереження. Усі обстежені II групи були розподілені на 3 підгрупи: Па група – донорський стаж 2–5 років (n=15), Пб група – 6–9 років (n=18) і Пв група – 10 і більше років (n=20).

В активних донорів із донорським стажем понад 10 років спостерігається розбалансування енергетичного обміну, що проявляється збільшенням вмісту в них 2,3-ДФГ та зменшенням АТФ, АДФ та АМФ. Розглянуті можливі механізми виникнення виявлених порушень.

Ключові слова: донорство крові, еритроцити, енергетичний обмін.

Метаболічні порушення, що виникають в умовах регулярних донорських крові протягом декількох років, впливають на функціонування систем підтримки гомеостазу, важливою ланкою серед яких є еритроцити периферійної крові [1, 3]. При цьому змінюються фізичні, біохімічні, морфологічні властивості еритроцитів [2, 6, 7]. Зміни еритроцитів необхідно розглядати як наслідок постійного напруження процесів еритропоезу в умовах постійного його стимулювання. У циркуляторне русло еритроцити потрапляють на стадії ретикулоцитів, які є перехідною формою від ядромістких нормобластів до без'ядерних еритроцитів [6, 7]. Дозрівання ретикулоцитів супроводжується суттєвими змінами в них обміну речовин протягом 30–44 год. Діаметр нормального еритроцита людини 7,5–8,3 мкм (може дещо зменшуватись протягом життя клітини), товщина – $2,68 \pm 0,27$ мкм на периферії та $0,81 \pm 0,35$ мкм у центрі, середній об'єм – $86,1$ мкм³, площа поверхні – 135 ± 16 мкм². Еритроцити периферійної крові не мають фіксованої структури, їхній відносно гомогенний вміст обмежує високоструктурна мембрана. Внутрішній вміст еритроцита є сильно концентрованим водним розчином гемоглобіну, в якому присутні гліколітичні ферменти, нуклеотиди, 2,3-дифосфогліцерат (ДФГ) та інші фосфорильовані сполуки, глутатіон, електроліти тощо [6]. Виконання еритроцитом специфічних високоспеціалізованих функцій забезпечується здатністю підтримувати інтегрованість і функціональну повноцінність гемоглобіну протягом життя клітини, специфічну форму та проникати до найвіддаленіших ділянок організму. Життєдіяльність і функціонування еритроцита забезпечується утилізацією глюкози – фактично єдиного джерела енергії для нього. Головними фосфорорганічними сполуками, які забезпечують енергетичний обмін еритроцита, є 2,3-дифосфогліцерина кислота (2,3-ДФГ), АТФ, АДФ та АМФ. Їхня питома вага у складі фосфорорганічних сполук

еритроцита становить понад 90%. Головним регулятором кисневотранспортної функції еритроцита є 2,3-ДФГ. Існують зворотно пропорційні взаємовідношення між вмістом 2,3-ДФГ та спорідненістю гемоглобіну до кисню. Існує і зворотна кореляція між концентрацією гемоглобіну і концентрацією 2,3-ДФГ. Важливим внутрішньоклітинним механізмом адаптації за гіпоксичних станів є збільшення в еритроцитах вмісту 2,3-ДФГ. Критерієм функціональної повноцінності еритроцитів є вміст в них фосфорорганічних сполук [2, 6, 7]. У науковій літературі ми не зустрічали даних стосовно комплексної оцінки їхнього вмісту в активних донорів крові, що і спонукало нас провести відповідні дослідження.

Мета дослідження: вивчити вміст 2,3-ДФГ, АТФ, АДФ і АМФ в еритроцитах активних донорів крові, провести порівняльний аналіз із їхнім рівнем у первинних донорів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Було обстежено 92 донори віком від 20 до 55 років (48 чоловіків та 44 жінки). Серед них 39 осіб (21 чоловік та 18 жінок) здійснювали донорство вперше в житті – вони склали I групу спостереження (контрольна група), та 53 донори (27 чоловіків та 26 жінок) були постійними донорами зі стажем донорства більше двох років і здійснювали понад дві-три донорські щорічно – вони склали II групу спостереження. Усі обстежені II групи були розподілені на 3 підгрупи: Па група – донорський стаж 2–5 років (n=15), Пб група – 6–9 років (n=18) і Пв група – 10 і більше років (n=20). Визначення 2,3-ДФГ у відмитих еритроцитах периферійної венозної крові проводили неензиматичним методом, який базується на визначенні фосфатів в хлорокислих екстрактах за І.С. Лугановою, М.Н. Бліновим [4]. Вміст АТФ, АДФ, АМФ в еритроцитах визначали ензимоспектрофотометричним методом за І.С. Лугановою, І.Ф. Сейц [5]. Хіміко-аналітичні дослідження проводили в лабораторії аналізу біологічно активних сполук кафедри судової медицини Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Автори висловлюють щиро подяку професору Б.В. Михайличенку за методичну та консультативну допомогу при проведенні лабораторних досліджень.

Результати досліджень обробляли методами варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У табл. 1 наведено дані щодо показників кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, концентрації гемоглобіну та еритроцитарних індексів в обстежених первинних донорів (I група).

Із наведених даних видно, що кількість еритроцитів у первинних донорів-жінок у середньому становила $4,31 \pm 0,07 \times 10^{12}/л$, а у донорів-чоловіків – $4,55 \pm 0,05 \times 10^{12}/л$, що достовірно більше, ніж у жінок ($p < 0,05$). У цілому в осіб контрольної групи кількість еритроцитів в середньому становила $4,48 \pm 0,05 \times 10^{12}/л$, при індивідуальному коливанні показника від $3,95 \times 10^{12}/л$ до $4,92 \times 10^{12}/л$, у жінок – від

Показники периферійної крові у первинних донорів, M±m

Показник	Донори I групи, n=39	Чоловіки, n=21	Жінки, n=18	Достовірність різниці (p)
Кількість еритроцитів, $\times 10^{12}/л$	4,48±0,05	4,55±0,05	4,31±0,07	$p_1 < 0,05$
Концентрація гемоглобіну, г/л	139,14±1,74	143,32±1,82	128,70±0,99	$p_1 < 0,05$
Кількість ретикулоцитів, %	0,88±0,05	0,87±0,05	0,88±0,04	$p_1 > 0,05$
МСН, пг	30,63±0,25	31,13±0,24	29,39±0,42	$p_1 > 0,05$
MCV, fl	93,41±0,91	92,29±1,01	94,22±1,69	$p_1 > 0,05$
МСНС, %	34,38±0,23	34,41±0,41	34,35±0,31	$p_1 > 0,05$
Кількість лейкоцитів, $\cdot 10^9/л$	6,04±0,35	5,99±0,71	6,15±0,21	$p_1 > 0,05$
Кількість тромбоцитів, $\cdot 10^9/л$	197,43±0,93	199,07±1,33	196,01±0,73	$p_1 > 0,05$

Примітка. p_1 – достовірність різниці між показниками залежно від статі.

$3,95 \times 10^{12}/л$ до $4,61 \times 10^{12}/л$ та у чоловіків відповідно від $4,11 \times 10^{12}/л$ до $4,92 \times 10^{12}/л$. Достовірних відмінностей цього показника з аналогічними значеннями в активних донорів не виявлено ($p > 0,05$).

Концентрація гемоглобіну в обстежених первинних донорів-чоловіків в середньому становила $143,32 \pm 1,82$ г/л при індивідуальних коливаннях показника від 131 г/л до 160 г/л, а у жінок – $128,70 \pm 0,99$ г/л при індивідуальному коливанні параметра від 124 г/л до 132 г/л. Концентрація гемоглобіну у первинних донорів-чоловіків також є достовірно вищою, ніж у жінок ($p < 0,05$). Достовірних відмінностей цього показника з аналогічними значеннями у активних донорів не виявлено ($p > 0,05$).

Показник МСН у первинних донорів в цілому становив $30,63 \pm 0,25$ пг при коливанні показника від 27 пг до 33 пг. У донорів-жінок даний показник в середньому складав $29,40 \pm 0,42$ пг, при індивідуальних коливаннях від 27 пг до 31 пг, а у чоловіків відповідно – $31,13 \pm 0,24$ пг при індивідуальних коливаннях від 28 пг до 33 пг. Достовірних відмінностей показника МСН у обстежених донорів залежно від статі не виявлено ($p > 0,05$). Було виявлено достовірні відмінності цього показника від аналогічних його значень у активних донорів крові ($p < 0,05$).

Показник MCV у всіх первинних донорів в цілому становив $93,41 \pm 0,91$ fl при коливанні показника від 84 fl до 97 fl. У донорів-жінок означений показник в середньому складав $94,22 \pm 1,69$ fl при індивідуальних коливаннях від 89 fl до 97 fl,

а у чоловіків відповідно – $92,29 \pm 1,01$ fl при індивідуальних коливаннях від 84 fl до 96 fl. Достовірних відмінностей показника MCV у контрольній групі залежно від статі не виявлено ($p > 0,05$). Було виявлено достовірні відмінності даного показника від аналогічних його значень у жінок, що були активними донорами крові ($p < 0,05$).

Показник МСНС у всіх первинних донорів в цілому становив $34,38 \pm 0,23\%$ при коливанні показника від 33% до 35%. У донорів-жінок показник МСНС в середньому складав $34,35 \pm 0,31\%$ при індивідуальних коливаннях від 33% до 35%, а у чоловіків в середньому – $34,41 \pm 0,41\%$ при індивідуальних коливаннях показника від 33% до 35%. Достовірних відмінностей показника МСНС залежно від статі та віку у контрольній групі не виявлено ($p > 0,05$). У той самий час виявлено достовірні відмінності даного показника від аналогічних його значень у активних донорів крові ($p < 0,05$). Виявлені зміни є непрямим свідченням початку формування латентного дефіциту заліза у групі активних донорів крові.

Як видно з табл. 1, в обстежених осіб I групи достовірних відмінностей щодо кількості лейкоцитів і тромбоцитів залежно від статі та віку не виявлено ($p > 0,05$). Їх також не було виявлено і в групі активних донорів.

Дані відносно вмісту 2,3-ДФГ та аденіннуклеотидів в еритроцитах обстежених наведені у табл. 2.

Як видно із наведених даних, в активних донорів із донорським стажем понад 10 років спостерігається розбалан-

Таблиця 2

Вміст 2,3-ДФГ та аденіннуклеотидів в еритроцитах обстежених (мкмоль/г гемоглобіну)

Показник	Групи обстежених				Достовірність різниці (p)
	I група, n=39	Активні донори (II група), n=53			
		IIa група, n=15	IIб група, n=18	IIв група, n=20	
2,3-ДФГ	13,52±0,54	13,61±0,39	13,84±0,45	14,12±0,21	$p_1 > 0,1$ $p_2 > 0,1$ $p_3 < 0,05$
АТФ	3,28±0,17	3,26±0,21	3,27±0,11	3,01±0,05	$p_1 > 0,1$ $p_2 > 0,1$ $p_3 < 0,05$
АДФ	1,21±0,08	1,19±0,05	1,18±0,06	1,11±0,05	$p_1 > 0,1$ $p_2 > 0,1$ $p_3 < 0,05$
АМФ	0,40±0,03	0,40±0,05	0,39±0,03	0,34±0,03	$p_1 > 0,1$ $p_2 > 0,1$ $p_3 < 0,05$
АТФ+АДФ+АМФ	4,89±0,28	4,85±0,29	4,84±0,30	4,46±0,33	$p_1 > 0,001$ $p_2 > 0,001$ $p_3 < 0,05$

Примітки: p_1 – достовірність різниці між даними I групи і IIa групи; p_2 – достовірність різниці між показниками I групи і IIб групи; p_3 – достовірність різниці між показниками I групи і IIв групи.

сування енергетичного обміну, що проявляється збільшенням вмісту в еритроцитах 2,3-ДФГ та зменшенням – АТФ, АДФ та АМФ. Цілоком очевидно, що виявлені зміни носять вторинний характер і мають компенсаторно-приспосовне значення. Про роль заліза в регуляції енергетичного обміну красномовно свідчить тільки один факт – близько половини ензимів чи кофакторів циклу Кребса або містять цей елемент, або потребують його присутності для забезпечення функціонування [2, 6]. У нормі єдиним джерелом енергії для еритроцита є глюкоза. Енергія, яка отримується при утилізації глюкози в основному знаходиться у формі АТФ. За умови повного окиснення 1 моль глюкози утворюється 36 моль АТФ. В еритроциті глюкоза метаболізується за двома основними напрямками – шляхом Ембдена –Мейергофа та гексозомонофосфатним. У циклі Ембдена –Мейергофа глюкоза катаболізується до пірувату і потім – лактату. Основну кількість енергії еритроцит отримує саме із окиснювально-відновлювальних процесів циклу Ембдена–Мейергофа. Завдяки відновлювальним реакціям при цьому утворюється коензим, що відновлює метгемоглобін до гемоглобіну, і синтезується 2,3-ДФГ – важливий модулятор спорідненості гемоглобіну до кисню. У гексозомонофосфатному циклі метаболізується близько 10% глюкози, що споживається еритроцитом. В умовах гіпоксії відбувається інтенсифікація гексозомонофосфатного циклу, що супро-

джується накопиченням NADP-H. Означений коензим є необхідним для підтримання у відновленій формі глутатіону, який бере участь у реакціях, що спрямовані на захист еритроцита від перекисного ушкодження. Глюкоза, яка проходить гексозомонофосфатний цикл, після перетинання з шляхом прямого окиснення Ембдена–Мейергофа може частково використовуватися для синтезу АТФ і 2,3-ДФГ, але при цьому утворюється тільки 2 моль АТФ із кожного 1 моль глюкози [6].

ВИСНОВКИ

1. Однією із ланок патофізіологічних порушень метаболізму у еритроцитах за регулярної участі у донорстві понад 10 років є зміни енергетичного обміну в еритроцитах, що проявляється достовірним підвищенням вмісту в них 2,3-ДФГ та зменшенням АТФ, АДФ та АМФ.

2. Виявлені зміни мають вторинний характер і, очевидно, компенсаторно-приспосовальне значення в умовах тривалого стимулювання гемопоєзу регулярними донціями.

Перспективи подальших досліджень. Розбалансування енергетичного обміну, що спостерігається за тривалої участі у регулярному донорстві, виникає у комплексі метаболічних порушень, а встановлення першопричини вторинних метаболічних розладів для їхньої корекції є актуальною проблемою сучасної трансфузіології.

Патогенетические механизмы изменений энергетического обмена в эритроцитах доноров крови Ю.Ю. Дерпак, С.В. Выдыборец

В статье приведены результаты определения содержания 2,3-дифосфоглицерата (ДФГ), АТФ, АДФ, АМФ в эритроцитах периферической венозной крови у доноров крови.

Материалы и методы. Обследовано 92 донора в возрасте от 20 до 55 лет (48 мужчин и 44 женщины). Среди них 39 лиц (21 мужчина и 18 женщин) осуществляли донорство впервые в жизни – они вошли в I группу наблюдения (контрольная группа), и 53 донора (27 мужчин и 26 женщин) были постоянными донорами со стажем донорства более двух лет и осуществляли более двух-трех донаций ежегодно – они составили II группу наблюдения. Всех обследованных II группы разделили на 3 подгруппы: Ia группа – донорский стаж 2–5 лет (n=15), Ib группа – 6–9 лет (n=18) и Ic группа – 10 и более лет (n=20).

Результаты и выводы. У активных доноров с донорским стажем более 10 лет наблюдается разбалансирование энергетического обмена, что проявляется увеличением содержания в них 2,3-ДФГ и уменьшением АТФ, АДФ и АМФ. Рассмотрены возможные механизмы возникновения выявленных нарушений.

Ключевые слова: донорство крови, эритроциты, энергетический обмен.

Pathogenetic mechanisms of energetic methabolism changes in blood donor's erythrocytes Yu. Yu. Derpak, S. V. Vydyborets

This article shall be devoted to the results of 2,3-diphosphoglycerate, adenosine triphosphate, adenosine diphosphoric acid and adenosinemonophosphate determination in erythrocytes of blood donors' peripheral dark-red blood.

Materials and methods. 92 donors at the age of 20–55 (48 men and 44 women) have been examined. There are 39 persons (21 men and 18 women) having been donated firstly in their lives – they were included to the I study group (control group); and 53 donors (27 men and 26 women) were permanent donors with 2 years of experience having been donated more than twice and thirdly annually – they were included to the II study group. All II-group members were divided into three subgroups: Ia with 2–5 years' period of donor's probation (n=15), Ib – 6–9 years (n=18) and Ic – 10 and more years (n=20).

Results and Conclusions. Active donors with the more than 10 years' period of probation enjoy imbalance of energy exchange which has been indicated by the increase of 2,3-diphosphoglycerate and decrease of adenosine triphosphate, adenosine diphosphoric acid and adenosinemonophosphate. Possible mechanisms of diagnosed abnormalities shall be discussed.

Key words: blood donation, red blood cells, energy exchange.

Сведения об авторах

Дерпак Юрий Юрьевич – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9

Выдыборец Станислав Владимирович – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9; тел.: (044) 483-16-61

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Видиборець С.В. Донорство крові / С.В. Видиборець // Укр. журн. гематол. та трансфузіол. – 2009. – № 5. – С. 45–51.
2. Видиборець С.В. Донорство крові та метаболізм заліза: монографія / С.В. Видиборець, Ю.Ю. Дерпак, О.В. Сергієнко. – Вінниця–Бориспіль: ТОВ «Меркьюрі-Поділья», 2012. – 144 с.

3. Видиборець С.В. Ускладнення донорстві крові / С.В. Видиборець, О.В. Сергієнко // Укр. журн. гематол. та трансфузіол. – 2009. – № 3. – С. 39–45.
4. Луганова І.С. Определение 2,3-дифосфоглицериновой кислоты неэнзиматическим методом и содержания 2,3-дифосфоглицерата и АТФ в эритроцитах больных хроническим лимфолейкозом /

І.С. Луганова, М.Н. Блинов // Лаб. дело. – 1975. – № 11. – С. 652–654.
5. Луганова І.С. Свободные адениннуклеотиды в лейкоцитах человека / І.С. Луганова, І.Ф. Сейц // Биол. эксп. биол. и медицины. – 1971. – № 6. – С. 41–43.
6. Сергієнко О.В. Діагностика та корекція прихованих порушень метаболізму ерит-

роцитів у донорів крові: монографія / О.В. Сергієнко, С.В. Видиборець. – К.: НМАПО імені П.Л. Шупика, 2011. – 159 с.
7. Сергієнко О.В. Лабораторна діагностика залізодефіцитних станів у донорів крові / О.В. Сергієнко, С.В. Видиборець // Укр. журн. гематол. та трансфузіол. – 2010. – № 5. – С. 45–51.

Статья поступила в редакцию 03.11.2014