

УДК 577.152.121: 612.015.11

КИНЕТИЧЕСКОЕ СХОДСТВО МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОРМ АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ ЭРИТРОЦИТОВ И ПЕЧЕНИ КРЫС

Зимин Ю.В., Соловьева А.Г.*ФГУ «ННИИТО» Минздрава России, Нижний Новгород, e-mail: sannag5@mail.ru*

Проведено сравнение каталитических и кинетических свойств альдегиддегидрогеназы (АлДГ, КФ 1.2.1.3.) печени и эритроцитов крыс. Показано, что альдегиддегидрогеназа цельных эритроцитов идентична ферменту цитоплазматической фракции печени. Альдегиддегидрогеназа митохондрий идентична ферменту из гемолизата эритроцитов.

Ключевые слова: альдегиддегидрогеназа, эритроциты, печень, крысы

KINETIC SIMILARITY OF MOLECULAR FORMS OF ALDEHYDE DEHYDROGENASE OF RAT ERYTHROCYTES AND LIVER

Zimin Y.V., Solovyeva A.G.*Research Institute of Traumatology and Orthopedic, Nizhny Novgorod, e-mail: sannag5@mail.ru*

Comparison of catalytic and kinetic properties of aldehyde dehydrogenase (ALDH; EC 1.2.1.3.) of rat liver and erythrocytes has been made. The aldehyde dehydrogenase of whole erythrocytes is identical to the enzyme of liver cytosol fraction has been shown. Aldehyde dehydrogenase of mitochondria is identical to the enzyme from hemolysate of erythrocytes.

Keywords: aldehyde dehydrogenase, erythrocytes, liver, rats

Современная медицинская энзимология, которая включает в себя три основных направления: энзимопатологию, энзимодиагностику и энзимотерапию, все больше уделяет внимание изучению каталитических свойств и молекулярных механизмов регуляции ферментов в их естественном окружении в клетках различных органов и тканей [8, 1]. Это касается как условий физиологической нормы, так и патологии. Несомненно, что при этом возникает важный вопрос – насколько близки свойства одного и того же фермента в различных клетках организма.

Среди огромного количества ферментов альдегиддегидрогеназа (АлДГ, КФ 1.2.1.3.), как фермент биотрансформации альдегидов, привлекает особое внимание [6, 7]. Это связано с тем, что альдегиды являются высокотоксичными соединениями, которые оказывают существенное влияние на метаболизм, особенно при развитии патологии, в частности при термической травме. Сегодня не так много известно о внутриклеточной регуляции АлДГ. Однако данные сведения необходимы, чтобы разбираться в молекулярных механизмах метаболической адаптации клеток печени и крови при действии экстремальных факторов среды на организм.

Цель работы – сравнить кинетические свойства альдегиддегидрогеназы субклеточных органелл клеток печени и эритроцитов крыс.

Материал и методы исследования

Эксперименты проведены на белых крысах линии Vistar массой 180–250 г. Активность АлДГ

определяли в эритроцитах (суспензия эритроцитов в физиологическом растворе (1:40), гемолизат в дистиллированной воде в соотношении 1:40) и субклеточных фракциях печени (цитозоль, митохондрии) по Б.М. Кершенгольц с соавт. [4].

Субклеточные фракции печени получали путем дифференциального центрифугирования в градиенте плотности сахарозы, содержание белка определяли по методу Лоури в модификации [9]. Исследовали следующие кинетические характеристики фермента: K_i – время достижения $1/2V_{\max}$ – ферментативной реакции (мин); $V_{\max}$ – максимальная скорость реакции (мкмоль/мин); $V_{\max}/K_i$ (K_a) – коэффициент каталитической эффективности ферментативной реакции (мкмоль/мин²) [3]. Результаты исследований обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента [2].

Результаты исследований и их обсуждение

Кинетические данные, характеризующие свойства альдегиддегидрогеназы в суспензии эритроцитов и цитоплазматической фракции печени, представлены в табл. 1. Из табл. 1 видно, что K_i и $V_{\max}$ для данных ферментов существенно близки друг другу. Это позволяет предположить, что свойства данных молекулярных форм альдегиддегидрогеназы эритроцитов и цитоплазматической фракции идентичны. Активность фермента в суспензии эритроцитов достоверно ниже активности цитозоля печени в 9,2 раза (см. табл. 1). Согласно литературным данным, активность АлДГ эритроцитов на 2 порядка меньше активности в печени и идентична изоферменту цитозоля печени [5].

Сравнение между собой кинетических свойств АлДГ (K_i , $V_{\max}$, $V_{\max}/K_i$) в гемолизате эритроцитов и митохондриальной фракции

печени показало, что данные молекулярные формы фермента также близки между собой. Активность фермента в гемолизате

эритроцитов статистически значимо ниже активности митохондрий печени в 10,4 раза (табл. 2).

Таблица 1
Активность и кинетические показатели АлДГ эритроцитов и печени крыс ($n = 21$)

Фракции	Показатели			
	Активность, нмоль НАДН/мин·мг белка	K_p , мин	$V_{\max}$, мкмоль/мин	$V_{\max}/K_p$, мкмоль/мин ²
Цитозоль	76,70 ± 4,81	3,16 ± 0,66	12,74 ± 1,61	5,02 ± 0,30
Эритроциты	8,30 ± 0,17*	3,01 ± 0,21	11,17 ± 0,89	3,85 ± 0,12

Примечание: * – $p = 0,0023$.

Таблица 2
Активность и кинетические показатели АлДГ эритроцитов и печени крыс ($n = 21$)

Фракции	Показатели			
	Активность, нмоль НАДН/мин·мг белка	K_p , мин	$V_{\max}$, мкмоль/мин	$V_{\max}/K_p$, мкмоль/мин ²
Митохондрии	127,42 ± 17,43	5,79 ± 1,12	11,03 ± 2,08	2,00 ± 0,15
Гемолизат эритроцитов	12,31 ± 1,46*	6,03 ± 1,19	8,37 ± 1,56	1,53 ± 0,12

Примечание: * – $p = 0,0017$.

Из табл. 1 и 2 видно, что активность альдегиддегидрогеназы в цитоплазматической фракции статистически значимо ниже активности АлДГ митохондрий в 1,7 раза, активность фермента в цельных эритроцитах также ниже активности альдегиддегидрогеназы гемолизата эритроцитов.

Полученные экспериментальные данные по изучению кинетических свойств АлДГ эритроцитов и печени животных позволяют нам высказать гипотезу регуляции эритроцитарной альдегиддегидрогеназы в физиологических условиях жизнедеятельности организма.

Вышеизложенное позволяет предположить, что альдегиддегидрогеназа эритроцитов крови представлена как минимум в виде двух молекулярных форм фермента, которые связаны с плазматической мембраной клетки с различных ее сторон.

Таким образом, одна из форм АлДГ связана с внешней поверхностью мембраны эритроцита, а другая – с внутренней поверхностью плазматической мембраны данной клетки. В дополнение можно отметить, что эритроцитарная альдегиддегидрогеназа выполняет две важные функции: с одной стороны, она осуществляет утилизацию внутриэритроцитарного альдегида, а с другой – участвует в преобразовании внеэритроцитарного пула альдегидов.

Список литературы

1. Биссвангер Х. Практическая энзимология. – М.: БИ-НОМ, 2010. – 328 с.

2. Гланц С. Медико-биологическая статистика; пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

3. Зимин Ю.В., Сяткин С.П., Березов Т.Т. Молекулярные механизмы метаболической адаптации патологически измененной печени при токсическом гепатите // Вопросы медицинской химии. – 2001. – Т.47, № 3. – С. 346–352.

4. Кершенгольц Б.М., Ильина Л.П. Биологические аспекты алкогольных патологий и наркоманий. – Якутск: Изд-во ЯГУ, 1998. – 150 с.

5. Активность альдегиддегидрогеназы в эритроцитах больных алкоголизмом / И.М. Матвеева, М.А. Петрова, М.С. Усатенко и др. // Лабораторное дело. – 1991. – №6. – С. 20–24.

6. Allen EM, Anderson DG, Florang VR et al. Relative inhibitory potency of molinate and metabolites with aldehyde dehydrogenase 2: implications for the mechanism of enzyme inhibition // Chem Res Toxicol. – 2010. – Vol. 23, №11. – P. 1843–1850.

7. Hansell NK, Pang D, Heath AC et al. Erythrocyte aldehyde dehydrogenase activity: lack of association with alcohol use and dependence or alcohol reactions in Australian twins // Alcohol Alcohol. – 2005. – Vol. 40, №5. – P. 343–348.

8. Tarek H. El-metwally, Yakout A. El-Senosi. Medical Enzymology. – A Simplified Approach, 2010. – 154 p.

9. Waterborg J.H., Matthews H.R. The Lowry method for protein quantitation // Methods Mol Biol. – 1994. – Vol. 32, №1. – P. 1–4.

Рецензенты:

Корягин А.С., д.б.н., профессор кафедры физиологии и биохимии человека и животных ННГУ имени Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород;

Контрорщикова К.Н., д.б.н., профессор, зав. кафедрой клинической и лабораторной диагностики ФПКВ ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития РФ, г. Нижний Новгород.

Работа поступила в редакцию 12.05.2011.