

**ТУРЛИ ХИЛ МУОЛАЖАЛАР ЎТКАЗИЛГАН ЭРИТРОЦИТАР
МАССАДАГИ ЭРИТРОЦИТЛАРДА АНТИОКСИДАНТ ФЕРМЕНТЛАРИ
ФАОЛЛИГИНИ БАҲОЛАШ**

Саидов А.Б.¹, Қурбонова Л.Ж.¹

¹*Тошкент тиббиёт академияси. Тошкент, Ўзбекистон*

**ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В
ЭРИТРОЦИТАХ ЭРИТРОЦИТАРНОЙ МАССЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ОБРАБОТКАХ**

Саидов А.Б.¹, Қурбонова Л.Ж.¹

¹*Ташкентская медицинская академия. Ташкент, Узбекистан*

**ASSESSMENT OF THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN RED CELLS
UNDER DIFFERENT TREATMENTS**

Saidov A.B.¹, Kurbonova L.J.¹

¹*Tashkent Medical Academy. Tashkent, Uzbekistan*

https://doi.org/10.62209/SPJ/vol4_iss1/art8

Аннотация. Турли усулларда тайёрланган эритроцитар массалардаги эритроцитларнинг антиоксидант ферментлари фаоллиги баҳоланиб, ёғларнинг пероксидланиш маҳсулотлари миқдори ҳамда антиоксидант ферментлари фаоллигида маълум ўзгаришлар мавжудлиги аниқланди.

Калит сўзлар: донор, қон, эритроцит, каталаза, супероксиддисмутаза

Аннотация. Оценена активность антиоксидантных ферментов эритроцитов в эритроцитарной массе, приготовленной разными методами, и установлено, что наблюдаются определенные изменения в количестве продуктов перекисного окисления жиров и активности антиоксидантных ферментов.

Ключевые слова: донор, кровь, эритроцит, каталаза, супероксиддисмутаза.

Abstract. The activity of antioxidant enzymes of erythrocytes in erythrocyte mass prepared by different methods was assessed, and it was found that certain changes were observed in the amount of fat peroxidation products and the activity of antioxidant enzymes.

Key words: donor, blood, erythrocyte, catalase, superoxide dismutase.

Маълумки, энг кенг тарқалган антиоксидант ферменти металлопротеидлар гуруҳига кирувчи супероксиддисмутаза (СОД) ҳисобланади. СОД эркин радикал жараёнларида ҳосил бўлувчи супероксид анионини (O_2^-) молекуляр кислород (O_2) ва водород пероксиди (H_2O_2) молекуласига айлантириш реакциясини катализлайди [5]. Инсонда СОДнинг 3 турини ажратишади: цитоплазматик (СОД1), митохондриял (СОД2) ва экстрацеллюляр (СОД3). Маълумки, эритроцитларда митохондриялар бўлмайдиган, шунинг учун уларда айнан цитоплазматик СОД, яъни Cu, Zn-СОД супероксидни нейтраллашда асосий ролни ўйнайди. Юқорида айтилганидек, реакция

натижасида яна бир кучли оксидловчи водород пероксиди H_2O_2 пайдо бўлади. Бу зарarli молекулани зарарсизлантириш учун эритроцитларда яна икки фермент – глутатионпероксидаза ва каталаза (КАТ) мавжуд [3]. H_2O_2 нинг паст концентрациялари глутатионпероксидаза томонидан (бунда оксидланган глутатион ва сув ҳосил бўлади), юқори концентрациялари эса – каталаза томонидан (кислород ва сув ҳосил бўлади) катализланади [4]. Эритроцитларнинг мембрана оксиллари ва цитоскелетининг оксидланишли шикастланишлари эрта ривожланиши текширишга бағишланган комплексли протеом тадқиқотда анаэроб шароитда оксидланишли шикастланишнинг анча жиддий тарзда камайиши кўрсатиб

ўтилган. Шундай қилиб, эритроцитларни анаэроб шароитда сақлаш эритмага антиоксидант кимёвий моддаларни қўшиш усулига нисбатан эътиборни тортадиган альтернатив усул ҳисобланади, чунки анаэроб сақлаш ушбу кимёвий моддаларни реципиентга киритиш билан боғлиқ хавфсизлик муаммоларини четлаб ўтишга имкон беради [6].

Илмий ишимизнинг мақсади турли шаклда тайёрланган эритроцитар массалардаги эритроцитларнинг **антиоксидант ферментлари фаоллигини баҳолашдан иборат.**

Тадқиқот материали ва усуллари. Тадқиқотлар фақат донорлар қонида ўтказилганлиги туфайли тажрибалар ўтказиш учун қон Республика қон қуйиш марказида ўзбек миллатига оид 21-62 ёшли жами 48 эркак донорлардан олинди. Қони олинган донорлар республиканинг деярли барча вилоятларидан ҳамда улар орасида ҳам шаҳарлик, ҳам қишлоқда истиқомат қилган шахслар бор. Донорлар уларнинг биологик

материаллари мўлжалланаётган илмий тадқиқот ишида ўрганилишидан хабардор қилинди ва бунга уларнинг розилиги олинди. Ушбу муолажалар Республика қон қуйиш маркази мутахассислари билан биргаликда олиб борилди.

Каталаза фаоллигини аниқлаш. Каталаза организмни тўқималардаги биологик оксидланиш таъсирида ҳосил бўлувчи водород пероксидининг захарли таъсиридан ҳимоя қилади. Қонда каталаза ферменти жуда юқори каталитик фаолликка эга бўлиб, у геминфермент ҳисобланади. Ранг интенсивлиги спектрофотометрда H_2O_2 ўрнига 2 мл H_2O тутган намунага нисбатан 410 нм тўлқин узунлигида ўлчанади [1]. Усулни ўтказиш йўллари 1-жадвалда келтирилган (1-жадвал).

Гептанли экстрактларда каталаза фаоллигини қуйидаги формулага кўра ҳисобладик:

$$E \text{ (mkKat/ml)} = (A_{\text{назорат}} - A_{\text{тажриба}}) \cdot V \cdot t \cdot 22.2$$

1-жадвал. Каталаза фаоллигини аниқлаш усуллари

	Назорат	Тажриба	Эслатма
H_2O_2	2 мл	2 мл	—
Экстракт	—	0.1 мл	10 дақиқа 37 °C
H_2O	0.1 мл	—	—
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$	1 мл	1 мл	—

СОД фаоллигини аниқлаш. СОД (KF 1.15.1.1) фаоллигини Misra va J. Fridovich (1972) усули [2] бўйича олиб бордик. Ушбу усулнинг принципи тетразолий нитроқўкининг (ТНК) фотоқайтарилишини ингибирланишига асосланган.

Реактивлар:

1. Фосфат буфери, 0,15 M, pH = 7,8.
2. TRIS-EDTA буфери, pH = 8,0
3. 1-реагент. 62 мг EDTA, 500 мг ТНК,

92 мг феназинметасульфат 1000 мл фосфат буферида эритилади, pH = 7,8

4. 2-реагент. 100 мл TRIS-EDTA буферида 76,3 мг NADH эритилади, pH = 8,0.

Ишни олиб бориш тартиби 2-жадвалда келтирилган (2-жадвал).

2-жадвал. СОД фаоллигини аниқлаш тартиби

	Назорат	Тажриба	Эслатма
TRIS-EDTA буфер. pH = 7.4	0.05 мл	—	
Экстракт	—	0.05 мл	
Реагент 1	2.0 мл	2.0 мл	10 дақиқа 37 °C
Реагент 2	0.1 мл	0.1 мл	5 дақиқа 25 °C

Реакцияни 25°C ҳароратда олиб бордик. Рангли эритманинг оптик зичлиги 540 нм тўлқин узунлигида оптик йўли узунлиги 1 см бўлган кюветада амалга оширилди. Намуна компонентларини кюветада аралаштирилгач, 10 дақиқадан сўнг эритманинг оптик зичлиги ўлчанди.

Ушбу реакция натижасида ТНК гидрозинтетразолий ҳосил қилади. СОД ферменти мавжуд бўлса, ТНКнинг тикланиш фози камаяди. Фермент фаоллигини қуйидаги формула асосида олиб бордик:

$$E_o - E_{pr} / E_o \cdot 100 (\%)$$

бунда E_o – намунанинг экстинкцияси,
 E_{pr} – тажрибанинг экстинкцияси.

Олинган натижалар таҳлили.
Тадқиқотларимиз натижалари ювилган эритроцитларда СОДнинг фаоллиги 9,42 дан

14,30 бирл./мл га тенг эканлигини кўрсатди (3-жадвал). Бунда СОД фаоллигининг ўртача миқдори $11,42 \pm 0,44$ бирл./мл га тенг бўлди. Ушбу эритроцитларда КАТ фаоллигини ўрганиш уларни 37,17 дан 64,30 мкКат/мл оралиғида эканлигини кўрсатди. Бунда унинг ўртача миқдори $48,40 \pm 2,72$ мкКат/мл га тенг бўлди.

Музлатилган эритроцитларда СОДнинг фаоллиги 12,53 дан 10,02 бирл./мл га тенг бўлди. Бу эритроцитларда СОД фаоллигининг ўртача миқдори эса $15,19 \pm 0,59$ бирл./мл га тенглашди. Ушбу эритроцитларда КАТ фаоллигини ўрганиш уларни 49,44 дан 85,52 мкКат/мл оралиғида эканлигини кўрсатди. Бунда унинг ўртача миқдори $64,37 \pm 3,62$ мкКат/мл га тенг бўлди.

3-жадвал. Турли усулларда тайёрланган эритроцитар массада антиоксидант ферментларининг фаоллиги

Кўрсаткичлар	Бирлик-лар	ЭРИТРОЦИТЛАР			
		Ювилган	Музлатилган	Нурланган	Фильтрланган
СОД	Бирл./мл	$11,42 \pm 0,44$	$15,19 \pm 0,59^{*,a}$	$8,16 \pm 0,32^*$	$3,26 \pm 0,13^{*,a,b}$
	min ÷ max	$9,42 \div 14,30$	$12,53 \div 19,02$	$6,73 \div 10,21$	$2,69 \div 4,09$
КАТ	мкКат/мл	$48,40 \pm 2,72$	$64,37 \pm 3,62^{*,a}$	$30,25 \pm 1,70^*$	$8,34 \pm 0,47^{*,a,b}$
	min ÷ max	$37,17 \div 64,30$	$49,44 \div 85,52$	$23,23 \div 40,19$	$6,41 \div 11,09$

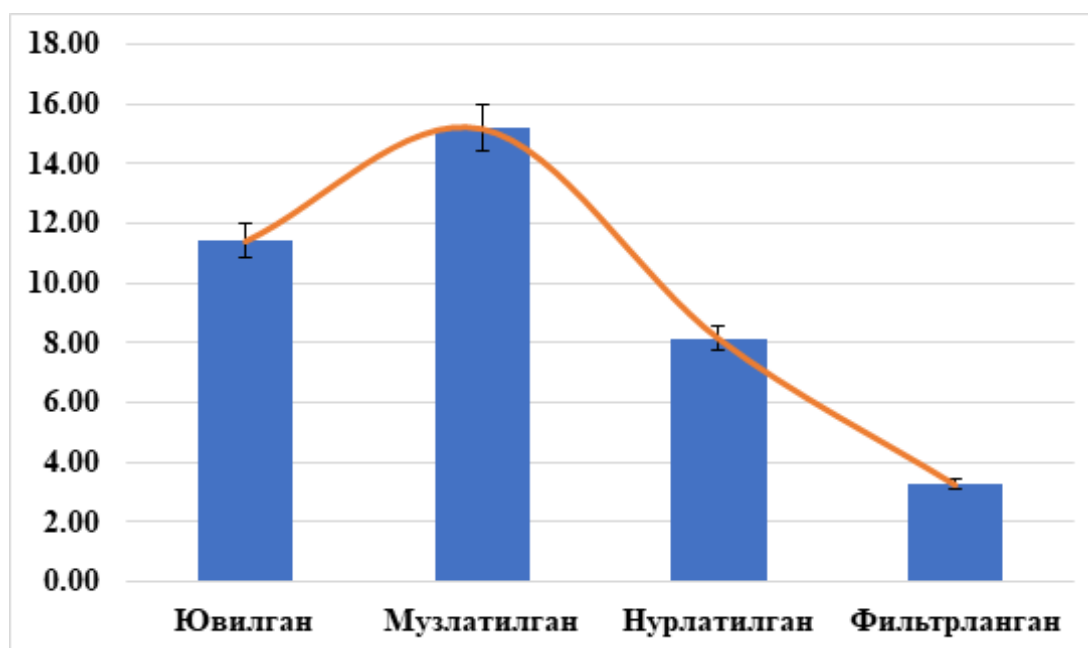
Изоҳ: * - $P < 0,05$ ювилган эритроцитларга нисбатан; а - $P < 0,05$ нурланган эритроцитларга нисбатан; б - $P < 0,05$ музлатилган эритроцитларга нисбатан;

Нурлатилган эритроцитларда эса СОДнинг фаоллиги 6,73 дан 10,21 бирл./мл оралиғида ўзгарди. Бу эритроцитларда СОД фаоллигининг ўртача миқдори эса $8,16 \pm 0,32$ бирл./мл га тенглашди. Ушбу эритроцитларда КАТ фаоллигини ўрганиш уларни 23,23 дан 40,19 мкКат/мл оралиғида эканлигини кўрсатди. Бунда унинг ўртача миқдори $30,25 \pm 1,70$ мкКат/мл га тенг бўлди.

Ва, ниҳоят, лейкофилтрланган эритроцитларда СОДнинг фаоллиги 2,69 дан 4,09 бирл./мл оралиғида ўзгарди. Ушбу эритроцитларда СОД фаоллигининг ўртача

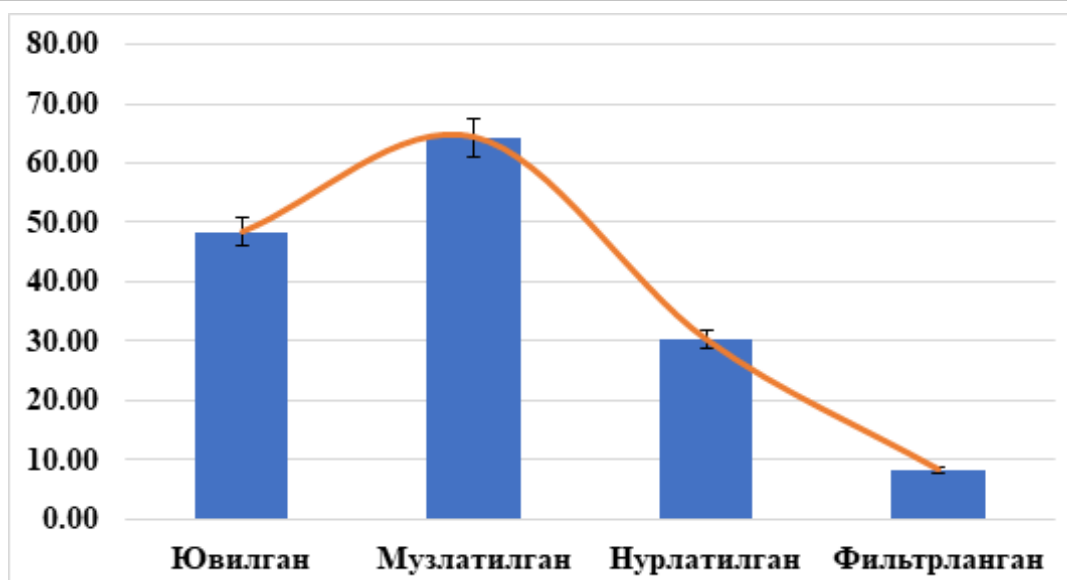
миқдори эса $3,26 \pm 0,13$ бирл./мл га тенглашди. Лейкофилтрланган эритроцитларда КАТ фаоллигини ўрганиш уларни 6,41 дан 11,09 мкКат/мл оралиғида эканлигини кўрсатди. Бунда унинг ўртача миқдори $8,34 \pm 0,47$ мкКат/мл га тенг бўлди.

Турли усулларда тайёрланган эритроцитар массани ўзаро солиштириш ва музлатилган эритроцитларда СОД миқдори ювилган эритроцитларникидан ишончли равишда 33 %га юқорилигини кўрсатди (1-расм).



1-расм. Турли усулларда тайёрланган эритроцитар массада СОД фаоллиги (ордината ўқи – бирл./мл).

Нурлатилган эритроцитларда СОД фаоллиги, аксинча, ювилган ва музлатилган эритроцитлардан статистик ишончли мос равишда 28,6 ва 46,3 % га паст бўлди. Лейкофилтрланган эритроцитларда эса СОД фаоллиги ювилган, музлатилган ва нурлатилган эритроцитлардан статистик ишончли мос равишда 71,5, 78,5 ва 60,1 % га паст бўлди.



2-расм. Турли усулларда тайёрланган эритроцитар массада КАТ фаоллиги (ордината ўқи – мкКат/мл).

Айнан шундай таҳлилни КАТ фаоллигини ўрганишда ҳам ўтказдик. Тадқиқотларимиз бунда ҳам музлатилган эритроцитларда ушбу фермент фаоллиги ювилган эритроцитларникига қараганда ишончли равишда 33 %га юкорилигини кўрсатди (2-расм).

Нурлатилган эритроцитларда КАТ фаоллиги, аксинча, ювилган ва музлатилган эритроцитлардан статистик ишончли мос равишда 37,5 ва 53,0 % га паст бўлди.

Лейкофилтрланган эритроцитларда эса КАТ фаоллиги ювилган, музлатилган ва нурлатилган эритроцитлардан статистик ишончли мос равишда 82,8, 87,0 ва 72,4 % га паст бўлди.

Шундайқилиб, олинган натижаларимиз турли усулларда тайёрланган эритроцитар массада ёғларнинг пероксидланиш маҳсулотлари микдори ҳамда антиоксидант ферментлари фаоллигида маълум ўзгаришлар мавжудлигидан далолат беради.

Фойдаланилган адабиётлар

1. Зелинский П.А., Паламарчук А.В. Спектр фосфолипидов у больных сахарным диабетом и влияние на него антиоксидантов // Проблемы эндокринологии. – 1994. – № 2. – С. 14-17.
2. Микаеляк Э.М., Князев Ю.А., Максина А.Г. Перекисное окисление липидов в эритроцитарных мембранах и крови при стрессе // Журнал эксперим. биол. и клинич. мед. – 1984. – № 2. – С. 123-130.
3. Al-Omar, M.A. Pathological roles of reactive oxygen species and their defense mechanisms / M.A. Al-Omar, C. Beedham, I.A. Alsarra // Saudi Pharm. J. – 2004. – Vol. 12. – P. 1-18.
4. Kodydková J. Human catalase, its polymorphisms, regulation and changes of its activity in different diseases / J. Kodydková, L. Vávrová, M. Kocík, A. Žák // Folia Biologica (Praha). – 2014. – Vol. 60. – P. 153-167.
5. Sheng Y. Superoxide dismutases and superoxide reductases / Y. Sheng, I.A. Abreu, D.E. Cabelli, M.J. Maroney, A.F. Miller, M. Teixeira, J.S. Valentine // Chem. Rev. – 2014. – 114 (7). – P. 3854-3918
6. Yoshida T, Shevkoplyas SS. Anaerobic storage of red blood cells. Blood Transfus. 2010 Oct;8(4):220-36. doi: 10.2450/2010.0022-10. PMID: 20967163; PMCID: PMC2957487.