

УДК 615.31:547.587.52:615.155.1:015.23

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КИСЛОТЫ ФЕРУЛОВОЙ НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

© 2013 Л.Е. Назарова, И.Л. Абисалова, М.А. Оганова

Пятигорский медико-фармацевтический институт –
филиал Волгоградского медицинского университета

Поступила в редакцию 23.10.2013

Экспериментально установлено, что кислота феруловая способствует повышению резистентности мембран эритроцитов в условиях окислительного стресса, вызванного воздействием гемолитических агентов. Полученные данные свидетельствуют о том, что результаты в сериях *in vivo* и *in vitro* не коррелируют, поэтому влияние антиоксидантов на устойчивость мембран эритроцитов при моделировании патологических процессов *in vivo* следует оценивать только с учетом комплексных реакций кроветворения и кроверазрушения.

Ключевые слова: *кислота феруловая, гемолиз, эритроциты, резистентность*

Ведущим патогенетическим механизмом, приводящим к снижению устойчивости эритроцитов к гемолизирующим агентам, является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) их мембран. В связи с этим вещества, обладающие выраженной антиоксидантной активностью, стабилизируя мембраны эритроцитов, будут способствовать повышению их резистентности к различным гемолитическим факторам [1, 2].

Цель исследования: изучение влияния кислоты феруловой на резистентность эритроцитов при воздействии гемолизирующих факторов *in vivo* (1 серия опытов) и *in vitro* (2 серия опытов).

В первой серии моделировали гемическую гипоксию путем введения нитрита натрия в дозе 0,5 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали мексидол в дозе 50 мг/кг. Животных разделили на 4 группы. Первая группа (контрольная) получала нитрит натрия. Вторая группа (опытная) за 30 минут до введения нитрита натрия получала кислоту феруловую в дозе 100 мг/кг. Третья группа (сравнения) за 30 минут до введения нитрита натрия получала мексидол в дозе 50 мг/кг. Четвертая группа (биологический контроль) получала физиологический раствор в эквивалентном объеме. Все вещества вводили однократно внутривенно. Забор крови для

определения резистентности эритроцитов проводили через 24 часа после введения веществ.

Результаты изучения осмотической резистентности эритроцитов показали, что в контрольной группе устойчивость к гемолизу достоверно снизилось на 11,4% ($P < 0,01$). На фоне действия кислоты феруловой устойчивость эритроцитов была достоверно выше значений контрольной группы на 10% ($P < 0,01$) и достоверно не отличалась от значений группы биологического контроля. В группе, получившей мексидол, общая резистентность эритроцитов также была достоверно выше контроля и не имела достоверных отличий от значений группы, получившей кислоту феруловую (табл. 1).

Таблица 1. Влияние кислоты феруловой на кислотно-резистентность эритроцитов в условиях нитритной гипоксии

Группа	Точка начала гемолиза (концентрация NaCl (%))	Достоверность
контроль	0,61±0,01	$P < 0,01$
опыт	0,55±0,01	$P_1 < 0,01$
мексидол	0,56±0,02	$P_1 < 0,05$
биологический контроль	0,54±0,01	

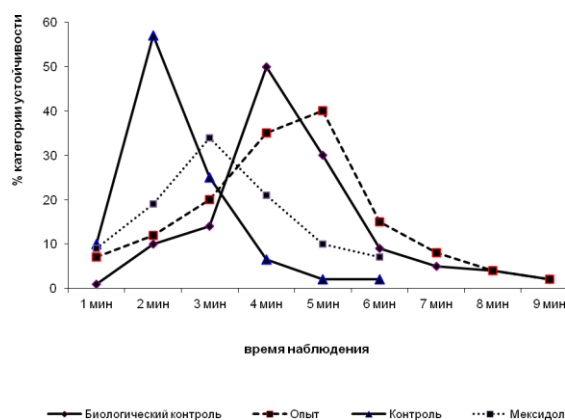
Примечание: P – достоверность относительно группы биологического контроля, P_1 – достоверность относительно контроля

По результатам изучения кислотно-резистентности построены эритрограммы. Сдвиг эритрограммы и её максимума влево от нормы

Назарова Любовь Ефимовна, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры биологии и физиологии Абисалова Ирина Леонидовна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры биологии и физиологии. E-mail: iraabi@yandex.ru

Оганова Марина Альбертовна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры биологии и физиологии. E-mail: marina-oganova81@mail.ru

указывает на появление эритроцитов с пониженной резистентностью. В контрольной группе уже на 2-й минуте наблюдения гемолизировалось 57% эритроцитов, что свидетельствует о значительном снижении их устойчивости в условиях нитритной гипоксии – пик эритрограммы значительно смещен влево. На фоне действия кислоты феруловой временной интервал максимума гемолиза наблюдался на 4-5 минуте, что соответствует таковому в группе биологического контроля. Это свидетельствует о повышении общей резистентности эритроцитов. Смещение влево пика эритрограммы на фоне действия мексидола показало, что содержание эритроцитов с низкой резистентностью выше, чем в группе, получившей кислоту феруловую.



Влияние кислоты феруловой и мексидола на кислотно-резистентность эритроцитов в условиях нитритной гипоксии

Во второй серии опытов моделирование окислительного стресса осуществляли инкубацией эритроцитов в среде Фентона, включающий сульфат железа (II) – 2 мМ и перекись водорода 3 мМ. Данное сочетание окислителей по реакции Фентона дает генерацию гидроксиданион радикалов. Опыты проводили с использованием клеточного материала крыс линии Wistar. Оценку резистентности вели, используя методику определения кислотного гемолиза.

Результаты. Весь пул циркулирующих в крови эритроцитов можно разделить на несколько групп. 1. Низкостойкие – до 3 минут (возраст больше 90 дней). 2. Среднестойкие – 3-5 мин (возраст 30-90 дней). 3. Высокостойкие – свыше 5 минут (возраст до 30 дней). Анализ содержания низкостойких форм эритроцитов показал, что при инкубации эритроцитов в растворе, содержащем только кислоту феруловую в 2 мМ концентрации, содержание низкостойких эритроцитов было достоверно ниже значений интактной группы на 5,3%. В группе, получавшей

кислоту феруловую профилактически перед инкубацией в среде Фентона, содержание низкостойких эритроцитов достоверно превышало как значения интактной группы на 6,7%, так и группы, получавшей только кислоту феруловую на 12,7%. В группе, получавшей кислоту феруловую лечебно, содержание низкостойких форм эритроцитов было достоверно ниже как контрольных значений на 7,2%, так и значений группы, получавшей кислоту феруловую профилактически (рис. 2). В контрольной группе содержание среднестойких эритроцитов было достоверно выше значений интактной группы на 32%. Во всех опытных группах количество среднестойких форм не имело достоверных отличий от значений интактной группы, и было достоверно ниже контроля (рис. 3). Содержание высокостойких форм эритроцитов в контрольной группе достоверно снизилось относительно значений интактной группы на 34%. Во всех опытных группах количество высокостойких эритроцитов достоверно превышало значения контроля и не имело отличий от значений интактной группы (рис. 4).

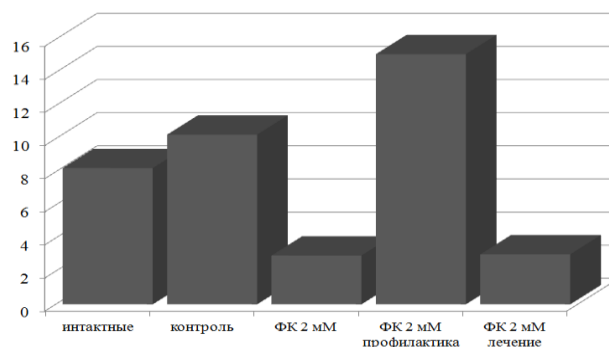


Рис. 2. Влияние кислоты феруловой на содержание низкостойких форм эритроцитов при моделировании окислительного стресса (in vitro)

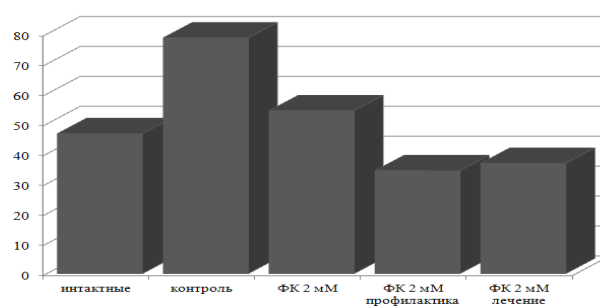


Рис. 3. Влияние кислоты феруловой на содержание среднестойких форм эритроцитов при моделировании окислительного стресса (in vitro)

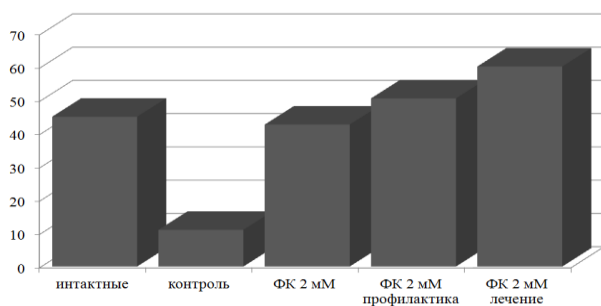


Рис. 4. Влияние кислоты феруловой на содержание высокостойких форм эритроцитов при моделировании окислительного стресса (in vitro)

Выводы: в контрольной серии экспериментов под влиянием окислительного стресса, вызванного инкубацией в среде Фентона, эритроциты вступили в фазу компенсации патологического процесса, о чем свидетельствует резкое возрастание пула среднестойких форм. Лечебное воздействие кислоты феруловой оказало цитопротекторный эффект в условиях инициации ПОЛ по отношению ко всем категориям устойчивости эритроцитов, снижая содержание низкостойких и повышая количество высокостойких форм. Профилактическое введение кислоты феруловой способствовало миграции части эритроцитов из категории среднестойких в категорию низкостойких, инициируя в них деструктивные процессы, что привело к снижению

суммарной резистентности в условиях эксперимента in vitro, что, казалось бы, противоречит полученным в первой серии опытов данным, свидетельствующим о защитном действии кислоты феруловой по отношению к мембранам эритроцитов в условиях экспериментальной патологии in vivo. Однако следует учитывать, что в организме данная группа эритроцитов быстро элиминируется кроверазрушающей системой и за счет стимуляции регенерации клеток костного мозга в периферической крови будет наблюдаться картина повышения устойчивости. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что влияние антиоксидантов на устойчивость мембран эритроцитов при моделировании патологических процессов in vivo следует оценивать только с учетом комплексных реакций кроветворения и кроверазрушения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Назарова, Л.Е. Активность кислоты феруловой в условиях цитотоксического повреждения / Л.Е. Назарова, М.А. Оганова, И.Л. Абисалова // Пятигорск: ООО РИА на КМВ, 2010. 115 с.
2. Дыгай, А.М. Гемостимулирующие свойства пантогематогена в условиях миелосупрессии, вызванной цитостатиками / А.М. Дыгай, Л.А. Гурьянцева, В.В. Жданов // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2000. Т. 63, № 6. С. 34-36.

RESEARCH THE INFLUENCE OF FERULIC ACID ON THE RESISTANCE OF ERYTHROCYTES MEMBRANES IN THE CONDITIONS OF OXIDIZING STRESS

© 2013 L.E. Nazarova, I.L. Abisalova, M.A. Oganova

Pyatigorsk medico-pharmaceutical institute –
branch of the Volgograd medical university

It is experimentally established that ferulic acid promotes increase of resistance of erythrocytes membranes in the conditions of oxidizing stress caused by influence of hemolytic agents. The obtained data testify that results in vivo and in vitro series don't correlate therefore influence of antioxidants on stability of erythrocytes membranes when modeling pathological processes in vivo should be estimated only taking into account complex reactions of hemopoiesis and blood destruction.

Key words: *ferul acid, hemolysis, erythrocytes, resistance*

Lyubov Nazarova, Doctor of Pharmacy, Professor at the Department of Biology and Physiology

Irina Abisalova, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Department of Biology and Physiology. E-mail: iraabi@yandex.ru

Marina Oganova, Candidate of Pharmacy, Senior Lecturer at the Department of Biology and Physiology. E-mail: marina-oganova81@mail.ru