

М. Р. Хохла, Г. Я. Клевета, З. В. Соліляк,
Я. П. Чайка, М. І. Скибіцька, Н. О. Сибірна
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

АНАЛІЗ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ КИСЛОТНОГО ГЕМОЛІЗУ ЕРИТРОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА ВВЕДЕННЯ ПРЕПАРАТУ ГАЛЕГИ ЛІКАРСЬКОЇ (GALEGA OFFICINALIS L.)

У статті наведено дані щодо впливу препарату, отриманого з екстракту галеги лікарської, на стійкість еритроцитів щурів до кислотного гемолізу за умов експериментального цукрового діабету. На підставі одержаних нами даних можна зробити висновок, що препарат галеги лікарської впливає на функціональний стан еритроциту, що викликає підвищення кислотної резистентності мембран еритроцитів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цукровий діабет, галега лікарська, еритроцити, кислотна резистентність.

ВСТУП. Розвиток цукрового діабету 1-го типу супроводжується вираженими порушеннями у функціонуванні системи еритроциту. Метаболічні порушення, що перебігають в еритроцитах при патологічних станах, є інтегральним відображенням реакції клітин на рівні всього організму [4]. Сукупність фізико-хімічних властивостей мембран еритроцитів зумовлює їх стійкість до дії несприятливих чинників. Тому показники стійкості еритроцитів широко використовують в експериментальній медицині з метою характеристики їх функціонального стану.

З метою пошуку нових препаратів для лікування цукрового діабету нами було досліджено галегу лікарську (*Galega officinalis* L.). Біологічну дію цієї рослини на даний час недостатньо вивчено, тому виникає потреба детально її дослідити на рівні змін морфофункціонального стану органів та систем, які найбільше пошкоджуються при діабеті, а саме системи периферичної крові.

Метою даної роботи було дослідити вплив препарату галеги лікарської на резистентність мембран еритроцитів до кислотного гемолізу за умов експериментального цукрового діабету 1-го типу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведені на білих безпородних щурах масою 100–150 г, яких утримували в стандартних умовах

віварію. Експериментальний цукровий діабет 1-го типу індукували внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину ("Sigma", США) з розрахунку 5,5 мг на 100 г маси тіла. Для експерименту використовували тварин з рівнем глюкози ($14,09 \pm 1,44$) ммоль/л. Щурам із цукровим діабетом *per os* вводили препарат, отриманий з екстракту галеги лікарської, у концентрації 0,6 г/кг маси тіла впродовж 14 дб.

З надземної частини галеги лікарської виготовляли спиртовий екстракт шляхом настоювання у 96 % етиловому спирті (підкисленому 0,1н хлоридною кислотою до рН 2) впродовж 12 год у співвідношенні 1:5 при кімнатній температурі. Екстракт упарювали у вакуумі за допомогою роторного випарювача LABOROTA 400 (Heidolph, Німеччина) при температурі 40–45 °С. До максимально упареного вихідного спиртового екстракту масою 6 г додавали 15 мл H₂O (до отримання однорідної маси) та рівний об'єм хлороформу. Після струшування зразки центрифугували впродовж 10 хв при 1500 об./хв. Отриманий залишок розділяли на алкалоїдовмісну (водну) та безалкалоїдну (хлороформну) фракції. Наявність алкалоїдів у водній фракції та їх відсутність у хлороформній фракції підтверджували якісними реакціями (реактив Драгендорфа, реактив Бушарда, 1 % пікрінова кислота) [6]. Для досліджень використовували безалкалоїдну фракцію, яку назвали препарат галеги лікарської.

Стійкість еритроцитів до кислотного гемолітика визначали за методом Терскова і Гітель-зона [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Клітинна мембрана є критичною мішенню у механізмах рН-індукованого гемолізу. В зовнішньому шарі мембрани відбуваються зміни конформації мембранних білків, що призводить до порушення бар'єрної функції мембран і гемолізу. Закислення цитозолу супроводжується генерацією вільних радикалів, які пошкоджують клітинні мембрани. Лізис еритроцитів у кислотному середовищі відбувається за трьома стадіями: проникнення іонів водню крізь плазматичну мембрану, протонування гемоглобіну та осмотичне руйнування еритроцитів. Тому показники стійкості еритроцитів широко використовують в експериментальній медицині з метою характеристики їх функціонального стану [3].

За умов цукрового діабету нами показано зниження стійкості еритроцитів до кислотного

гемолітика. Це проявлялося зменшенням часу появи максимуму і тривалості гемолізу та збільшенням максимальної частки гемолізованих еритроцитів. У еритроцитах діабетичних щурів мали місце дуже швидке зростання основного піку на еритрограмі (на 2,1 хв), зміщення його вліво та швидкий гемоліз еритроцитів периферичної крові, який завершувався на 7,4 хв, тоді як у контрольних тварин основний пік гемолізу простежувався на 3,7 хв, тривалість гемолізу становила 9,8 хв. Аналіз типових кислотних еритрограм еритроцитів свідчить про чітко виражене зміщення їх вліво, що зумовлено поєднанням дії двох чинників: скороченням тривалості сферуляції та часу досягнення максимуму гемолізу (рис. 1).

Зниження стійкості еритроцитів до кислотного гемолітика, з одного боку, може бути по-

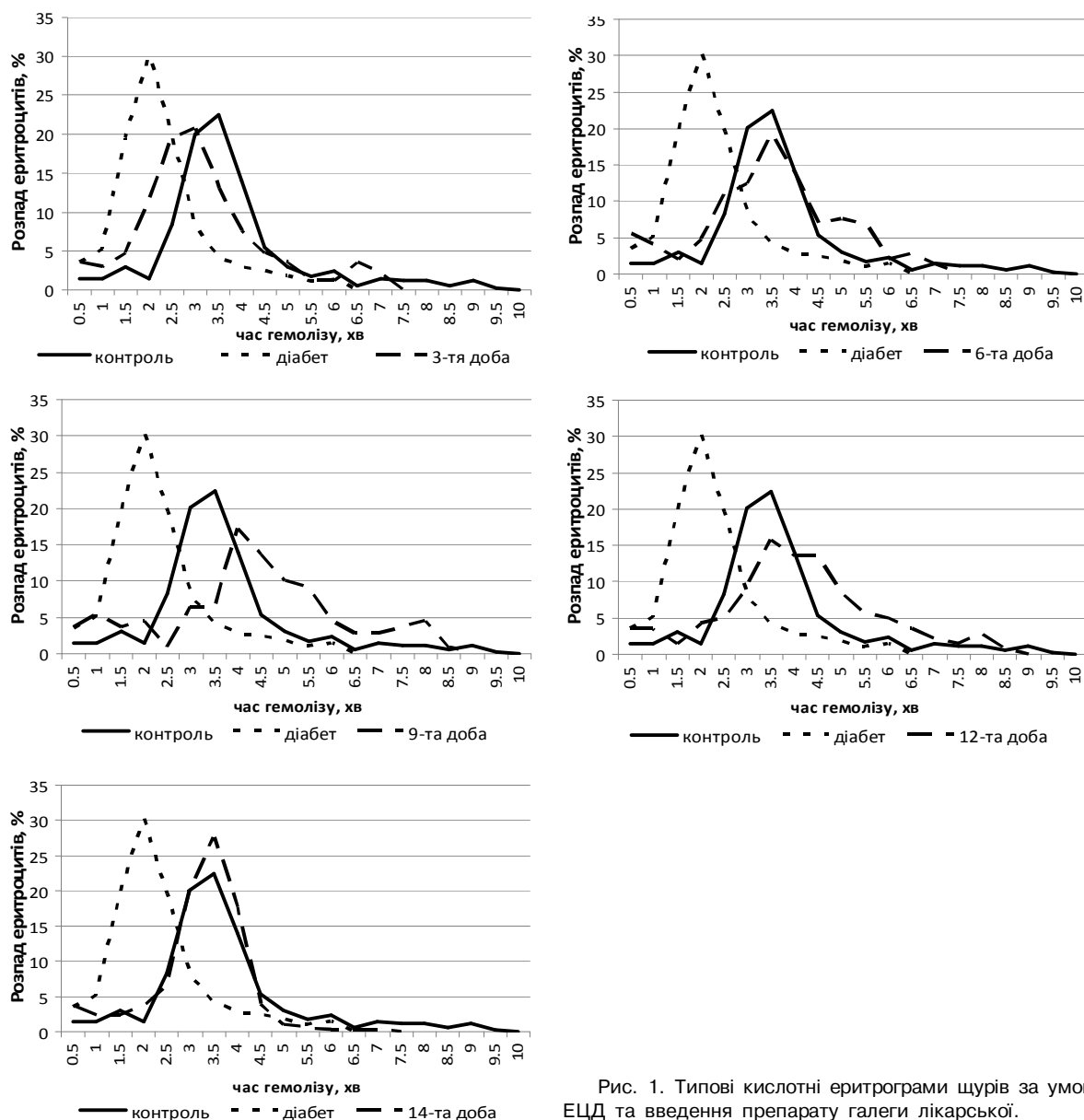


Рис. 1. Типові кислотні еритрограми щурів за умов ЕЦД та введення препарату галегі лікарської.

в'язане з накопиченням продуктів перекисного окиснення ліпідів, що спричиняє порушення структури еритроцитів, а з іншого – із зростанням популяції “фізіологічно старих” еритроцитів зі зниженою стійкістю до дії кислоти [5, 7].

Введення препарату галеги лікарської спричиняло підвищення стійкості мембран еритроцитів до дії кислотного гемолітика у тварин з ЕЦД. Показано зростання тривалості гемолізу еритроцитів (від 8,7 до 9,3 хв проти 7,4 за умов діабету) на фоні збільшення часу досягнення максимуму гемолізу (від 3 до 4 хв проти 2,1 хв при діабеті) та зниження максимальної частки гемолізованих еритроцитів (16,3 % порівняно з 26,3 % за умов діабету). Криві гемолізу зсунуті вправо (рис. 1). Підви-

щення стійкості мембран еритроцитів до гемолізу за умов введення досліджуваного препарату може бути пов'язане з антиоксидантними властивостями галеги лікарської. Зокрема, показано, що екстракт галеги лікарської перешкоджає накопиченню продуктів ПОЛ в еритроцитах периферичної крові щурів [1, 8].

ВИСНОВКИ. Розвиток цукрового діабету супроводжується порушенням структурно-функціональної організації еритроцитів, що проявляється зниженням їх стійкості до дії кислотного гемолітика. Оцінка показників кислотного гемолізу еритроцитів за введення тваринам з ЕЦД препарату галеги лікарської свідчить про його нормалізуючий вплив і підтверджує коригувальний мембранопротекторний ефект.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ажунова Т. А. Антидиабетическая активность Галеги лекарственной (*Galega officinalis* L.) / Т. А. Ажунова, П. В. Маркизов // Химико-фармацевтический журнал. – 1994. – **28**, № 6. – С. 35–36.
2. Гительзон М. И. Эритрограммы как метод клинического исследования крови / М. И. Гительзон, И. А. Терсков. – Красноярск, 1954.
3. Иванов И. Т. Сравнение механизмов кислотного и щелочного гемолиза эритроцитов человека / И. Т. Иванов // Биофизика. – 2001. – **46**, вып. 2. – С. 281–290.
4. Структурно-метаболический статус и функциональные особенности эритроцитов при инсулинзависимом сахарном диабете у детей / В. В. Новицкий, М. В. Колосова, Е. Б. Кравец [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – **128**, № 9. – С. 347–351.
5. Фейзуллаев М. М. Инсулинотерапия и состояние естественной гемопоэтической активности крови у больных инсулинозависимым сахарным диабетом / М. М. Фейзуллаев // Международный медицинский журнал. – 2011. – № 2. – С. 62–64.
6. Шелудько В. М. Практичний посібник з фармакогнозії / В. М. Шелудько, Ю. І. Колесниченко. – К. : Здоров'я, 1965. – 305 с.
7. Baynes J. W. Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm / J. W. Baynes, S. R. Thorpe // *Diabetes*. – 1999. – **48**. – P. 1–9.
8. Polyphenol content and in vitro antioxidant activity of aqueous-alcoholic extracts from bulgarian herbs / Y. Kiselova, D. Ivanova, V. Galunska [et al.] // *Bulletin of the medical institute after Mehrabyan*. – 2006. – № 1. – P. 78–83.

М. Р. Хохла, Г. Я. Клевета, З. В. Солиляк, Я. П. Чайка, М. И. Скибицкая, Н. А. Сибирная
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИВАНА ФРАНКО

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КИСЛОТНОГО ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА И ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА ГАЛЕГИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ (*GALEGA OFFICINALIS* L.)

Резюме

В статье приведены данные о влиянии препарата, полученного из экстракта галеги лекарственной, на устойчивость эритроцитов крыс к кислотному гемолизу в условиях экспериментального сахарного диабета.

На основании полученных нами данных можно заключить, что препарат галеги лекарственной влияет на функциональное состояние эритронов, что вызывает повышение кислотной резистентности мембран эритроцитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **сахарный диабет, галега лекарственная, эритроциты, кислотная резистентность.**

M. R. Khokhla, H. Ya. Kleveta, Z. V. Solilyak, Ya. P. Chayka, M. I. Skybitska, N. O. Sybirna
IVAN FRANKO LVIV NATIONAL UNIVERSITY

ANALYSIS OF ERYTHROCYTES ACID HEMOLYSIS CHANGES UNDER THE EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS AND ADMISSION OF GALEGA OFFICINALIS L. MEDICINE

Summary

The article contains data on the influence of the medicine, derived from Galega officinalis L. extract, on rats' erythrocytes resistance to acid hemolysis under the experimental diabetes mellitus. On the basis of the obtained data we can conclude that the Galega officinalis medicine affects the functional state of erythrocytes, causing increase of erythrocyte membranes acid resistance.

KEY WORDS: **diabetes mellitus, Galega officinalis, erythrocytes, acid resistance.**

Отримано 04.10.11

Адреса для листування: Н. О. Сибірна, вул. Дорошенка, 50, кв. 4, Львів, 79000, Україна.