

## ИЗМЕНЕНИЕ АГРЕГАЦИОННЫХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПЕНТОКСИФИЛЛИНА И СОЕДИНЕНИЯ СУМ-55 ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ВХОДА КАЛЬЦИЯ В КЛЕТКУ

**Л.В. Науменко**

*Волгоградский государственный медицинский университет, г. Волгоград*

## THE CHANGE OF AGGREGATION PROPERTIES OF ERYTHROCYTES UNDER THE INFLUENCE OF PENTOXIFYLLINE AND SUM-55 COMPOUND WITH THE STIMULATION OF AN ENTRANCE OF CALCIUM INTO A CELL

**L.V. Naumenko**

*Volgograd State Medical University, Volgograd*

**Цель работы:** изучение влияния соединения СУМ-55 и пентоксифиллина на параметры агрегации при изменении концентрации кальция в эритроцитах

**Материалы и методы исследования:** в качестве потенциального корректора синдрома повышенной вязкости крови исследовано соединение СУМ-55 (1,3-диметил-7-(2-гидрокси-3-пиперидинопропил-1)-8-фениламиноксантина гидрохлорид, Патент РФ №2344137) и препарат с гемореологической активностью пентоксифиллин («Aventis», Германия). Эксперименты были выполнены на 50 белых нелинейных крысах самцах, массой 270-300 г. Забор крови производился из брюшной аорты под легким эфирным наркозом. В каждой серии суспензию отмытых эритроцитов делили и инкубировали в течение 15 мин при 37°C с соединениями в конечной концентрации  $1 \times 10^{-4}$  моль/л. Связывание кальция в среде осуществляли с помощью хелатора  $\text{Ca}^{2+}$  - ЭГТА (1 мМ) (Sigma, США). Повышение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке достигалось путем инкубации клеток с кальциевым ионофором А 23187 (3,0 мкМ) (Sigma, США). Степень агрегации эритроцитов определяли с помощью полуавтоматического агрегометра типа МА1 (Myrenne, Германия). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием табличного редактора Microsoft Excel и пакета прикладных программ «Statistika 6.0»

**Результаты:** на первом этапе с целью исключения возможного хелатирующего действия соединения СУМ – 55 оценивали его влияние на параметры агрегации эритроцитов в сравнение с ЭГТА. Связывание кальция в среде с помощью хелатора  $\text{Ca}^{2+}$  - ЭГТА (1 мМ) сопровождалось снижением степени агрегации ( $p > 0.05$ ). Соединение СУМ-55 и пентоксифиллин в комплексе с ЭГТА приводили к незначительному повышению агрегации эритроцитов по сравнению с пробами инку-

**Purpose of the work** was to study the effect of SUM-55 compound and pentoxifylline on aggregation parameters in changes of the concentration of calcium in erythrocytes.

**Material and methods of the study:** as a potential equalizer high blood viscosity syndrome studied compound BMS-55 (1,3-dimethyl-7-(2-hydroxy-3-piperidinepropyl-1)-8-phenyl aminoxanthan of hydrochloride, RF patent no 2344137) and a drug with hemorheological activity of pentoxifylline («Aventis», Germany). The experiments were performed on 50 white male outbred rats, weighed 270-300 g. Blood sampling was carried out from the abdominal aorta under a light ether anesthesia. Each series, the suspension of washed red cells were divided and incubated for 15 minutes at 37°C with the compounds at a final concentration  $1 \times 10^{-4}$  mol/l. Binding of calcium in the medium was performed using the  $\text{Ca}^{2+}$  chelator - EGTA (1 mM) (Sigma, USA). Increase of  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations in the cell was achieved by incubating the cells with calcium ionophore А 23187 (3.0 mM) (Sigma, USA). The degree of platelet aggregation was measured with semiautomatic type aggregometer MA1 (Myrenne, Germany). Statistical analysis was performed using a table editor Microsoft Excel and «Statistika 6.0» software package

**Results:** at the first stage, in order to avoid a possible chelating effect of the SUM-55 compound we evaluated its impact on the parameters of platelet aggregation in comparison with EGTA. Binding of calcium in the medium using the  $\text{Ca}^{2+}$  chelator, EGTA (1 mM) was accompanied by a decrease in the degree of aggregation ( $p > 0.05$ ). The compound SUM-55 and pentoxifylline in a complex with EGTA resulted in a slight increase in platelet aggregation, compared with the samples incubated with EGTA alone, but the received data is not statistically significant. To further confirm the data obtained erythrocyte aggregation was studied using a light microscopy, with further im-

бированными только с ЭГТА, однако полученные данные не являлись статистически достоверными. Для подтверждения полученных данных дополнительно исследовалась агрегация эритроцитов методом световой микроскопии, с последующей видеорегистрацией изображения. ЭГТА, соединение СУМ-55 и пентоксифиллин не изменяли показатель агрегации эритроцитов (ПА). Повышение уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в эритроцитах в результате инкубации клеток с кальциевым ионофором А 23187 (3,0 мкМ) существенно стимулировало агрегацию клеток. Так при скорости сдвига  $600 \text{ c}^{-1}$  степень агрегации в двух интервалах времени увеличивалась более чем в 5 раза. При низкой скорости –  $3 \text{ c}^{-1}$  также в двух временных интервалах данный показатель увеличивался на 90% и практически в 3 раза соответственно ( $p < 0.05$ ). Соединение СУМ-55 при скорости сдвига  $600 \text{ c}^{-1}$  снижало степень агрегации эритроцитов, по сравнению с пробами проинкубированными только с ионофором, на 71% ( $p < 0.05$ ) и 61% (M5 и M10), а препарат сравнения на 33% ( $p < 0.05$ ) и 40% (M5 и M10). При уменьшении скорости сдвига до  $3 \text{ c}^{-1}$  влияние соединения СУМ-55 на показатель агрегации эритроцитов незначительно уменьшилось и составило 63%, 60% ( $p < 0.05$ ) соответственно временным интервалам - 5 и 10 секунд. Пентоксифиллин снижал степень агрегации эритроцитов на 40% и 46% (M<sub>1</sub>5 и M<sub>1</sub>10) ( $p > 0.05$ ).

**Выводы:** пентоксифиллин и соединение СУМ-55 влияют на регуляцию процессов агрегации эритроцитов действуя на сложные внутриклеточные каскады реакций, обусловленные участием ионизированного кальция, который может активировать различные киназы и фосфатазы, приводя к фосфорилированию или дефосфорилированию ключевых белков мембранного цитоскелета. И полученные данные подтверждаются отсутствием хелатирующей способности пентоксифиллина и соединения СУМ-55.

age video record. EGTA, the compound SUM-55 and pentoxifylline did not change the index of platelet aggregation (PA). Increase of  $\text{Ca}^{2+}$  into the erythrocytes by incubation of the cells with calcium ionophore A 23187 (3.0 mM) significantly stimulated cell aggregation. Thus, at a shear rate of  $600 \text{ sec}^{-1}$  in the degree of aggregation of two time intervals increased more than 5 times. At low speed –  $3 \text{ sec}^{-1}$  in two timeslots active components increased by 90% and nearly 3 times, respectively ( $p < 0.05$ ). The SUM-55 compound at a shear rate of  $600 \text{ sec}^{-1}$  reduced the degree of aggregation of erythrocytes, as compared with the samples incubated with only the ionophore, 71% ( $p < 0.05$ ) and 61% (M5 and M10), a comparator 33% ( $p < 0.05$ ) and 40% (M5 and M10). With decreasing shear rate  $3 \text{ s}^{-1}$  effect of SUM-55 compound on platelet aggregation rate decreased slightly and amounted to 63%, 60% ( $p < 0.05$ ), respectively, time intervals - 5 and 10 seconds. Pentoxifylline reduces the degree of platelet aggregation by 40% and 46% (M15 and M110) ( $p > 0.05$ ).

**Conclusions:** pentoxifylline and SUM-55 compound affect the regulation of platelet aggregation by acting on the complex of intracellular cascades of reactions caused by the participation of ionized calcium, which can activate a variety of kinases and phosphatases, resulting in phosphorylation or dephosphorylation of key proteins of the membrane cytoskeleton. And the findings received are confirmed by the absence of a chelating ability of pentoxifylline and SUM-55 compound.