
МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КЕТОРОЛАКА ТРОМЕТАМИНА НА МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ

Д.Б. Холодов, В.А. Николаевский

Кафедра фармакологии
Фармацевтический факультет ВГУ
ул. Студенческая, 3, Воронеж, Россия, 394036
тел. +79114636467, эл. почта: holodov@pharm.vsu.ru

В данной статье представлены результаты исследования влияния кеторолака трометамина на клетки организма с использованием модели лекарственный препарат — эритроцит. Авторами установлено, что кеторолака трометамин в различных концентрациях при контакте с клетками живого организма активно взаимодействует с белками мембраны, образуя комплексы лекарственный препарат — белок, тем самым лекарственный препарат вызывает изменение структуры мембраны эритроцитов. Также авторами показано значение времени контакта препарата с клетками.

Ключевые слова: кеторолака трометамин, эритроцит, клетка, мембрана, гемолиз.

Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) — одна из наиболее широко применяемых фармакологических групп [4]. В исследованиях, проведенных нами ранее, был установлен дозозависимый эффект повреждающего действия диклофенака натрия на мембраны эритроцитов, данный препарат обладает непосредственным повреждающим действием на биологические мембраны, механизмом которого является денатурация белковых глобул.

Цель исследования: изучить возможность формирования кеторолака трометамина скрытых дефектов в мембранах эритроцитов в концентрациях $4,98 \cdot 10^{-7}$, $9,96 \cdot 10^{-7}$; $19,92 \cdot 10^{-7}$ моль/л. Объектом исследования являлись эритроциты белых беспородных крыс массой 200—250 г. в количестве 30 голов.

Материалы и методы. В качестве модифицирующего агента мы использовали коммерческий препарат кеторол (кеторолак* — К-т) (Д-р Редди'с Лабораторис ЛТД) в концентрациях $4,98 \cdot 10^{-7}$ моль/л, $9,96 \cdot 10^{-7}$ моль/л; $19,92 \cdot 10^{-7}$ моль/л, что соответствует ED₂₅, ED₅₀, ED₁₀₀ (C₁, C₂, C₃ соответственно). Суспензию эритроцитов получали по методу Л.А. Блюменфельда [2]. Содержание клеток в образцах контролировали спектрофотометрически [1, 3]. Кинетику индуцированного К-т гемолиза эритроцитов изучали с помощью прибора КФК-3 (ОАО Загорский оптико-механический завод. Загорск). Структурное состояние эритроцитов, модифицированных К-т, оценивали по изменению их осмотической резистентности в гипосмотическом растворе NaCl. В качестве основных показателей, характеризующих осмотическую резистентность эритроцитов, использовали: константу максимальной скорости гемолиза (K_{max}), величину G₁₂₀%, характеризующую относительное количество гемолизированных эритроцитов [1, 3].

Результаты исследования приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

**Значение K_{\max} в зависимости от концентрации
и времени инкубации ($p < 0,05$)**

n	Концентрация	K_{\max}					
		t, мин					
		0	15	30	60	120	240
10	C_1	7,115	11,43	9,514	7,115	11,43	11,43
10	C_2	9,514	11,43	9,514	8,144	9,514	9,514
10	C_3	11,43	11,43	9,514	11,43	9,514	8,144

Таблица 2

**Значение G_{120} в зависимости от концентрации
и времени инкубации ($p < 0,05$)**

n	Концентрация	$G_{120}, \%$					
		t, мин					
		0	15	30	60	120	240
10	C_1	24,43	29,77	27,02	21,75	22,82	25,14
10	C_2	29,66	38,37	34,56	32,38	26,9	30,98
10	C_3	39,4	37,5	37,27	35,46	31,37	31,25

Анализ K_{\max} показал, что при добавлении в рабочую суспензию эритроцитов К-т в концентрации C_1 и инкубации от 0 до 15 минут происходит увеличение данного показателя ($K_{\max 0} = 7,115$; $K_{\max 15} = 11,43$) ($p < 0,05$), что свидетельствует о увеличении относительной доли эритроцитов одновременно вступивших в стадию гемолиза, т.е. в данный период увеличивается проницаемость мембран эритроцитов вследствие снижения порога проницаемости мембран. Далее при инкубации суспензии эритроцитов с К-т в концентрации C_1 от 15 до 60 минут происходит замедление процесса гемолиза ($K_{\max 15} = 11,43$; $K_{\max 30} = 9,514$; $K_{\max 60} = 7,115$) ($p < 0,05$), а затем последующее ускорение данного процесса от 60 до 240-минутной инкубации ($K_{\max 60} = 7,115$; $K_{\max 120} = 11,43$; $K_{\max 240} = 11,43$) ($p < 0,05$). Таким образом, в интервале 15—60 минут происходит увеличение порога проницаемости мембран эритроцитов вследствие дифференцировки более стойких («среднестойких») эритроцитов и более ускоренный их переход к стадии собственно гемолиза при 60—240-минутной инкубации, что объясняется увеличением доли эритроцитов со сходными структурными изменениями и снижением порога проницаемости мембран.

При добавлении в рабочую суспензию эритроцитов К-т в концентрации C_2 распространение модифицирующего действия было сходно по сравнению с концентрацией C_1 . Однако при отсутствии инкубации нами зарегистрировано увели-

чение значения K_{\max} относительно C_1 ($K_{\max 0}C_1 = 7,115$; $K_{\max 0}C_2 = 9,514$) ($p < 0,05$). Это связано с увеличением доли эритроцитов, одновременно вступивших в стадию гемолиза в результате использования более высокой концентрации К-т. При инкубации от 15 до 240 минут аналогично C_1 в процесс гипоосмотического гемолиза вовлекается субпопуляция «среднестойких» эритроцитов, но с тенденцией к модификации более стойкой субпопуляции, о чем свидетельствуют изменения значения K_{\max} ($K_{\max 15}C_2 = 11,43$; $K_{\max 30}C_2 = 9,514$; $K_{\max 60}C_2 = 8,144$; $K_{\max 120}C_2 = 9,514$; $K_{\max 240}C_2 = 9,514$) ($p < 0,05$).

При инкубации взвеси эритроцитов с К-т в концентрации C_3 нами установлено, что распространение модифицирующего действия и соответственно вовлечение в процесс гипоосмотического гемолиза «низко- и среднестойкой» субпопуляции эритроцитов происходит уже до 60-минутной инкубации. Однако от 60 до 240 минут нами зарегистрировано вовлечение в процесс гемолиза субпопуляции «высокостойких» эритроцитов, что отражается изменением значения K_{\max} ($K_{\max 60}C_3 = 11,43$; $K_{\max 120}C_3 = 9,514$; $K_{\max 240}C_3 = 8,144$) ($p < 0,05$).

При анализе показателя G_{120} , который отражает долю гемолизированных эритроцитов за 120 секунд и характеризует связь со спектрин-актиновым комплексом мембран эритроцитов [3], нами установлен дозозависимый эффект формирования скрытых дефектов в мембране более стойких в гипоосмотической среде эритроцитов, а также зарегистрировано распространение модифицирующего действия К-т в концентрации C_1 и C_2 на две субпопуляции и в концентрации C_3 на одну, но более резистентную в гипоосмотических условиях.

Таким образом, в ходе проведенных исследований, нами установлено, что кеторолака трометамин в концентрациях $4,98 \cdot 10^{-7}$ моль/л, $9,96 \cdot 10^{-7}$ моль/л; $19,92 \cdot 10^{-7}$ моль/л, соответствующих ED_{25} , ED_{50} , ED_{100} , вызывает формирование скрытых дефектов в мембране эритроцитов, а также выявлен дозозависимый эффект непосредственного повреждающего действия на клеточном уровне.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Артюхов В.Г., Шмелёв В.П., Ковалёва Т.А. Биофизика. — Воронеж: Изд-во ВГУ, 1994. — 327 с.
- [2] Блюменфельд Л.А. Биофизика. — М.: Наука, 1972. — 954 с.
- [3] Резван С.Г., Вашанов Г.А., Лавриненко И.А. и др. Молекулярные механизмы взаимодействия гемоглобина с серотонином // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. — 2004. — Т. 90. — № 8. — С. 46—47.
- [4] Ушакова Е.А. Нестероидные противовоспалительные лекарственные средства — новый взгляд на эффективность и безопасность // Фарматека. — 2006. — № 7. — С. 31—36.

THE KETOROLAK TROMETAMINE'S MODIFICATING ACTION ON THE ERYTHROCYTE'S MEMBRANES

D.B. Holodov, V.A. Nikolaevsky

Pharmaceutical faculty
Department of pharmacology VSU
Studencheskaja str., 3, Voronezh, Russia, 394036
tel. +79114636467, email:holodov@pharm.vsu.ru

The article concerns the research's results, deals by the ketorolak trometamine's influence on the cells, using the model «drug — erythrocyte». Authors established that ketorolak trometamine in various concentrations during the contact by the live cells can interact with the membrane's proteins forming complexes «drug — protein». This drug can cause the membrane's structural changes. Also, it was determined the time value on the preparation's effects.

Key words: ketorolak trometamine, erythrocyte, cell, membrane, hemolysis.