

Главен редактор: Гр. Велев - патология
(Ст. Загора)
Editor-in-chief: Gr. Velev - pathology
(St. Zagora)

Зам. главен редактор: Ч. Начев -
кардиология (София)
Deputy Editor-in-chief: C. Nachev -
cardiology (Sofia)

Научен секретар: Н. Беловежов -
нефрология (София)
Sc. secretary: N. Belovejzov -
nephrology (Sofia)

Редакционна колегия (Editorial Board):

М. Ачкова - психиатрия (София)
M. Atchkova - psychiatry (Sofia)

Ст. Баев - хирургия (София)
S. Baev - surgery (Sofia)

Л. Дянков - рентгенология (София)
L. Diankov - radiology (Sofia)

М. Озиданов - имунология (София)
M. Oziyanov - immunology (Sofia)

Б. Първова - физиология (София)
B. Pirnova - physiology (Sofia)

Ил. Томов - кардиология (София)
I. Tomov - cardiology (Sofia)

Редакционен съвет (Advisory Board):

Ал. Атанасов - ендокринна хирургия (Ст. Загора)
A. Atanassov - endocrine surgery (St. Zagora)

Н. Атанасов - клинична лаборатория (Пловдив)
N. Atanassov - clinical laboratory (Plovdiv)

В. Борисов - социална медицина (София)
V. Borissov - social medicine (Sofia)

В. Влахов - клинична фармакология (София)
V. Vlahov - clinical pharmacology (Sofia)

А. Гълъбов - вирусология (София)
A. Galabov - virology (Sofia)

Ст. Данев - клинична лаборатория (София)
S. Danev - clinical laboratory (Sofia)

Д. Джеров - ортопедия (София)
D. Dzherov - orthopaedics (Sofia)

А. Дурмишев - дерматология (София)
A. Dourmishev - dermatology (Sofia)

Г. Ефремов - молекулярна биология
(Скопие, Р. Македония)

G. Efremov - molecular biology
(Skopje, R. Macedonia)

К. Койчев - анатомия (Плевен)
K. Koitchev - anatomy (Pleven)

Д. Ненов - нефрология (Варна)
D. Nenov - nephrology (Varna)

Г. Петков - педиатрия (Стара Загора)
G. Petkov - pediatrics (Stara Zagora)

П. Солаков - ревматология (Пловдив)
P. Solakov - rheumatology (Plovdiv)

Д. Чакарров - неврология (Плевен)
D. Tchakarov - neurology (Pleven)

Д. Цветков - хигиена и екология (София)
D. Tsvetkov - hygiene and ecology (Sofia)

Й. Шейтанов - ревматология (София)
Y. Sheytanov - rheumatology (Sofia)

Българска Медицина

Bulgarian Medicine

- ОБЗОРИ
- КАРДИОЛОГИЯ
- ХИРУРГИЯ
- ОНКОЛОГИЯ
- ФИЗИОЛОГИЯ
- СОЦИАЛНА МЕДИЦИНА
- ПАТОЛОГИЯ
- АНАТОМИЯ И ХИСТОЛОГИЯ
- КЛИНИЧНА БИОХИМИЯ

1,2 '98



БЪЛГАРСКА НАЦИОНАЛНА АКАДЕМИЯ ПО МЕДИЦИНА
BULGARIAN NATIONAL ACADEMY OF MEDICINE

ФОНДАЦИЯ ЗА МЕДИЦИНСКИ ИЗСЛЕДВАНИЯ
„ПРОФ. Д-Р СТОЯН КИРКОВИЧ“

ВЛИЯНИЕ НА НЯКОИ ЛЕКАРСТВЕНИ ПРЕПАРАТИ ВЪРХУ КИСЕЛИННАТА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА ЧОВЕШКИ ЕРИТРОЦИТИ

И. Т. Иванов¹, Б. Попов²

Категра физика и биофизика¹, Категория химия и биохимия², Медицински факултет, Тракийския университет, Стара Загора

EFFECT OF SOME DRUG SUBSTANCES ON THE ACID RESISTANCE OF HUMAN RED BLOOD CELLS

I. T. Ivanov¹, B. Popov²

Department of Physics and Biophysics¹, Department of Chemistry and Biochemistry², Medical Institute, Thracian University, Stara Zagora, Bulgaria

РЕЗЮМЕ: Ходът на киселинната хемоллиза на човешки еритроцити беше регистриран по промяната на оптичната плътност при 700 nm.

Киселинната резистентност (времето за което хемолизираха 50% от клетките) се променяше в присъствие на различни концентрации от урегит, фуросемид, димедрол, дипиридамола, аспирин и ибупрофен.

Тези препарати се проявяват като окислителни, протонифори или се внедряват в липидния бислой на мембраната. В концентрация до 10 µg/ml урегитът увеличаваше киселинната резистентност на еритроцитите, а в по-висока концентрация всички лекарствени препарати я намаляваха в различна степен.

КЛЮЧОВИ ДУМИ: Киселинна резистентност, човешки еритроцити, лекарствени препарати.

SUMMARY: The time-course of the acid-induced hemolysis of human erythrocytes was followed recording the changes in optical density at 700 nm. Acid resistance, e.g. the time interval for 50% hemolysis, changed in the presence of different concentrations of uregit, furosemide, dimedrol, dipyridamole, aspirin and ibuprofen. These drugs could affect acid hemolysis by incorporation into the lipid bilayer of cell membrane, by oxidizing membrane components and/or acting as protonophors. It was shown that uregit, up to 10 µg/ml, augmented the acid resistance, whereas at greater concentrations all drugs decreased it at a drug depending degree.

KEY WORDS: acid resistance, human erythrocytes, drug substance.

ВЪВЕДЕНИЕ. Човешките еритроцити са в постоянно движение и влизат във връзка с всички тъкани. Те участват в транспорта на газовете и преноса на някои лекарства [1]. Като се имат пред вид тези функции на еритроцитите, интересно е да се изследва влиянието на някои лекарствени препарати върху тяхната киселинна резистентност, за което няма литературни данни. За целта бяха избрани разнообразни по фармакологични ефекти препарати с различна химична структура и свойства. Получените резултати позволяват да се направи заключение относно механизмите, чрез които те влияят върху киселинната резистентност на човешките еритроцити.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ. Използвани бяха урегит, фуросемид, димедрол, дипиридамола, аспирин и ибупрофен [2]. Дипиридамола беше разтворен в диметил сулфоксид в начална концентрация 40 mg/ml, а аспиринът - в топъл физиологичен разтвор. Ибупрофенът беше разтворен в топъл разтвор на ацетон (200 mg/ml), а получената утайка беше центрофугирана. Супернатантът беше разтворен в диметилсулфоксид при разреждане 1:10. Останалите препарати бяха разтворени във физиологичен разтвор. При провеждане на опитите крайната концентрация на диметил сулфоксида беше под 1%, а на ацетона - под 0.1%.

Еритроцитите бяха отделени от свежа кръв на клинично здрави дарители и трикратно промивани във физиологичен разтвор. С това се целеше отстраняването на плазмените белтъци, мембранопроникващите метаболити и следи от употребявани лекарствени средства. За определяне на киселинната устойчивост на клетките те бяха суспендирани във физиологичен разтвор (контрола) и във физиологичен разтвор, съдържащ изследвания препарат. Киселината беше прибавяна 5 минути след суспендирането на еритроцитите, за да се постигне равновесие в разпределението на препаратите между клетките и средата.

Хемолизата беше предизвикана чрез добавяне на сярна киселина, понижаваша pH на суспензионната среда от на-

чално 6.9 до крайно 2.6, измерено с pH-метър Radelkis (Унгария). Присъствието на лекарствените препарати и на диметилсулфоксид, даже в най-голяма концентрация, не повлия с повече от 0.02 единици крайната стойност на pH на средата.

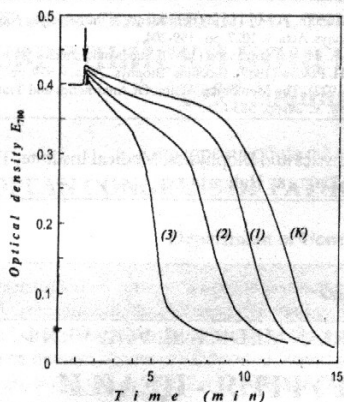
Ходът на хемолизата беше регистриран, като се записваше промяната на оптичната плътност E_{700} на 1.8 ml еритроцитна суспензия след добавяне на 20 µl 2% H₂SO₄ при непрекъснато разбъркване. При 700 nm, и поглъщането на хемоглобина е пренебрежимо малко и оптичната плътност зависи само от разсейването на светлината, което е пропорционално на концентрацията на клетките, останали интактни [3].

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ. Протичането на киселинната хемоллиза е показано на фиг. 1.

Известно е, че добавянето на киселината дава начало на предлитичен период, в който се увреждат еритроцитните мембрани. Това увреждане предизвиква хемолиза, разпределена в определен интервал поради различната устойчивост на мембраните [4]. Под киселинна резистентност се разбира времето, необходимо за лизиране на половината от клетките, което се променяше в присъствие на лекарствения препарат (фиг. 1). Тази промяна може да се използва като мярка за предизвиканата дестабилизация на мембраната.

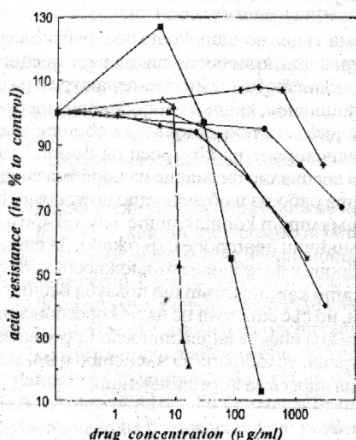
На фиг. 2 е показана промяната на киселинната резистентност на човешки еритроцити като функция от концентрацията на лекарствените препарати. В таблица 1. е направено сравнение между способностите на отделните препарати да дестабилизира мембраната на тези клетки.

1. *Uregit* - в концентрация до 10 µg/ml той повишаваше киселинната резистентност на еритроцитните мембрани до 127 % спрямо контролата. Вероятно се образуват водородни връзки между карбоксилните групи на гве молекули урегит. Полученият димер не може да извърши



Фигура 1. Ход на киселинната хемоллиза на човешки еритроцити в присъствие на различни концентрации на ибупрофен: (K) - 0 mg/ml (контрола); (1) - 5 mg/ml; (2) - 10 mg/ml; (3) - 20 mg/ml. Стрелката показва момента на прибавяне на киселината.

Fig. 1. Temporal course of the acid-induced hemolysis of human red blood cells as affected by different concentrations of ibuprofen: (K) - 0 mg/ml, a control; (1) - 7 mg/ml; (2) - 10 mg/ml; (3) - 20 mg/ml. Arrow indicates the injection of acid load.



Легенда:
 (■) - урегит, (+) - фуросемид, (●) - димедрол, (X) - дипиридамола, (△) - аспириин и (▲) - ибупрофен.

Legends:
 (■) - uregit, (+) - furosemide, (●) - dimedrole, (X) - dipiridamolium, (△) - aspirin, (▲) - ibuprofen.

Фигура 2. Промяна в киселинната резистентност на човешки еритроцити при различни концентрации от лекарствени препарати. Тя е представена като процент спрямо резистентността на клетките в отсъствие на препарата (контрола).

Fig. 2. Concentration dependence of the effect produced by different drugs on the acid resistance of human erythrocytes. The change in acid resistance is represented as a percent of control one.

окисление и има хидрофобни свойства. Това дава възможност на урегита да се внедри в липидния бислой и да стабилизира мембраната. Приложен в концентрация над 10 µg/ml, той силно дестабилизираше еритроцитната мембрана, което се проявяваше с намаление на киселинната резистентност.

2. **Фуросемид** - в концентрация до 100 µg/ml той повишаваше киселинната резистентност на еритроцитите, но в по-малка степен в сравнение с урегита. Това би могло да се

| Лекарствен препарат | Концентрация (mg/ml) |
|---------------------|----------------------|
| ибупрофен | 0.01 |
| урегит | 0.06 |
| дипиридамола | 0.4 |
| аспириин | 0.5 |
| фуросемид | 6.0 |
| димедрол | 6.0 |

Таблица 1. Концентрации на лекарствените препарати, при които беше установено 30 % на маление в киселинната резистентност.

Tabl. 1. Concentrations of drugs producing a 30 % reduction in the acid resistance of human erythrocytes.

обясни с по-слабо изразените му хидрофобни свойства спрямо тези на урегита и на по-слабата му способност да се внедрява в липидния бислой.

3. **Димедрол** - не е реактивоспособен. Поради високата си хидрофобност той лесно се внедрява в липидния бислой, с което може да се обясни дестабилизацията на мембраната, когато препаратът е в концентрация над 0.5 mg/ml.

4. **Дипиридамола**. Известно е, че той взаимодейства нековалентно с мембранните протеини, като при микромолярни концентрации се свързва специфично с анионния канал [5], а в милимолярни - и с други транспортни белтъци. В концентрация над 100 µg/ml, дипиридамола ускоряваше киселинната хемоллиза. Това вероятно се дължи на дестабилизирането на транспортните белтъци, вследствие свързването на техните amino или карбоксилни групи с четирите метиленхидроксилни групи на дипиридамола.

5. **Аспириин** - в концентрация до 10 µg/ml той не повлияваше хемолизата. С увеличаване на концентрацията му хемолизата се ускоряваше. Това би могло да се обясни с протонифорния му ефект и окислителното действие на карбоксилната му група върху липидите и сулфидрилните групи на мембранните белтъци.

6. **Ибупрофен** - в концентрация до 5.5 µg/ml слабо стабилизираше еритроцитната мембрана, а над 10 µg/ml ускоряваше хемолизата най-силно в сравнение с останалите лекарствени препарати. Това вероятно се дължи на хидрофобните и окислителните свойства на ибупрофена, който по химична структура е близък до урегита.

Известно е, че някои амфибилни съединения, например локалните и общи анестетици и транквилизатори, при високи концентрации дестабилизируют еритроцитните мембрани, а в ниски ги стабилизират спрямо механично, хипотонично и киселинно въздействие [6]. Тези ефекти се дължат на внедряването на препаратите в липидния бислой. В ниски концентрации това предизвиква увеличаване на обема и площта му, а във високи - конформационна промяна и дестабилизация на мембранните белтъци. Увеличената киселинна резистентност на еритроцитите, която се наблюдаваше при ниски концентрации на някои от препаратите (урегит и фуросемид), би могла да се обясни с механизъм, подобен на гореописания.

При по-високи концентрации, всички изследвани лекарствени препарати ускоряваха киселинната хемоллиза. Механизмите на този процес могат да бъдат:

- **Флуидизиране на липидния бислой и свързването с това дестабилизиране на мембранните белтъци.** Вероятно такъв е случаят при урегита и ибупрофена.

- **Преминаване на препарата в протонирана форма през мембраната и свързването с това подкисляване на цитозола.** Подобен протонифорен ефект е налице при аспириина.

- **Окисление на липидите и мембранните белтъци от изследвания лекарствен препарат** (аспириин, урегит и ибупрофена).

КНИГОПИС - REFERENCES

1. Петков, В. (редактор). Фармакологията - основа на фармакотерапията. Медицина и Физкултура, София, 1983, стр. 69.
2. Машковский, М. Д. Лекарственные средства. Пособие по фармакотерапии для врачей. Москва, Медицина, 1988.

3. Pani, A., R. Granth. (1990) The pH dependence of the hemolytic potency of the bile salts. Biochim. Biophys. Acta, v. 1027, pp. 199-204.
4. Терсков, И. А., И. И. Гутельзон (1957). Биофизика, т. 2, с. 259.
5. Legrum, B., H. Passow (1989). Biochim. Biophys. Acta, v. 979, pp. 193-207.
6. Seeman, P (1972). The Membrane Action Of Anesthetics and Tranquilizers. Pharmacological Review. v. 24, pp. 583-655.

И. Т. Иванов

Катедра физика и биофизика, Медицински факултет,
Тракийския университет, Стара Загора

I.T.Ivanov

Department of Physics and Biophysics, Medical Institute, Thracian
University, Stara Zagora, Bulgaria

* * *

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.