

## БИОХИМИЯ

УДК 615.322:547.458].015.4:612.11

### **ДЕЙСТВИЕ ПОЛИСАХАРИДА КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ НА КРОВЬ И КРОВЕТВОРЕНИЕ**

**О.В. Калинин, И.А. Сычев**

Рязанский государственный медицинский университет  
им. акад.И.П. Павлова Минздрава России, Рязань

Проведено исследование по изучению действия полисахарида крапивы двудомной на кровь и процессы кроветворения. Из воздушно-сухого сырья выделен полисахарид, определен его качественный и количественный моносахаридный состав. Действие полисахарида на кровь здоровых животных изучали на крысах линии Вистар. В пробах крови определяли количество эритроцитов и гемоглобина, общее число лейкоцитов и их состав. В те же сроки исследовали костный мозг, выделенный из бедренных костей. Полученные результаты свидетельствуют о том, что полисахарид крапивы двудомной стимулирует процессы кроветворения, повышая общее количество эритробластических островков костного мозга экспериментальных животных. Под действием полисахаридного препарата возрастает число эритроцитов и уровень гемоглобина в крови подопытных животных, увеличивается относительное содержание моноцитов на протяжении всего эксперимента, уменьшается общее количество лейкоцитов, но при этом увеличивается процентное содержание сегментоядерных нейтрофилов.

**Ключевые слова:** полисахарид, эритроциты, гемоглобин, лейкоциты, костный мозг, эритробластический островок.

**Введение.** Растительные полисахариды в последнее время рассматривают в большей степени не в качестве вспомогательных веществ, а как биологически активные вещества (Криштанова, 2005).

Введение их в организм животных вызывает целый комплекс изменений в составе крови, они влияют на активность ферментных систем, активируют иммунную систему организма, вызывают изменения в составе и структуре кроветворных органов. Некоторые растительные полисахариды активируют процессы кроветворения при различных видах анемии, а также при облучении (Сычев и др., 2007).

Было установлено, что полисахарид крапивы двудомной стимулирует физическую работоспособность здоровых животных, повышает резистентность мембран эритроцитов при взаимодействии с

ними *in vitro*, активирует процессы фагоцитоза (Калинкина, Сычев, 2014).

Состояние органов кроветворения, состав и свойства крови отражают состояние организма и направленность протекающих в нем процессов. Поэтому целью нашего исследования являлось изучение действия полисахарида крапивы двудомной на кровь и процессы кроветворения.

**Методика.** Из предварительно очищенного 80% раствором этанола воздушно-сухого сырья 1,5 часовой водной экстракцией на кипящей водяной бане выделяли водорастворимый полисахаридный комплекс (ВРПК). Пектиновые вещества извлекали из шрота, оставшегося после получения ВРПК 1% раствором щавелевокислого аммония в соотношении 1:10 на водяной бане при температуре 80<sup>0</sup> С в течение 1 часа и повторяли три раза для полного выделения пектинов. Полисахарид осаждали избытком 96% этанола. Осадок полисахарида промывали несколько раз 96% этанолом, ацетоном, эфиром, очищали диализом, пересаживанием (Кочетков, 1967).

Качественный и количественный моносахаридный состав полисахарида определяли после 9-часового гидролиза 1 н. серной кислотой. Идентификацию моносахаридов проводили методом нисходящей бумажной хроматографии в системе бутанол-1-уксусная кислота-вода (4:1:5). Нейтральные сахара проявляли анилинфталатом. Количество уроновых кислот определяли комплексонометрическим методом (Зайцева, Афанасьева, 1957).

Действие полисахарида на кровь здоровых животных изучали на 30 крысах линии Вистар, содержащихся в стандартных условиях вивария. Для этого готовили 5% раствор полисахарида в физиологическом растворе. Подопытным животным вводили раствор полисахарида *per os* в дозе 0,1 г/кг массы тела один раз в сутки в течение 15 дней, контрольные животные получали в те же сроки равный объем физиологического раствора. У контрольных и подопытных животных кровь на анализ брали на 3, 5, 10, 15 сутки эксперимента. В пробах крови определяли количество эритроцитов и гемоглобина, количество моноцитов, лимфоцитов, лейкоцитов и сегментоядерных нейтрофилов.

В это же время у животных для исследования брали костный мозг из двух бедренных костей. Для этого их наркотизировали, декапитуировали и извлекали бедренные кости. Бедренные кости очищали от остатков мышц и волокон, вскрывали и выделяли костный мозг в среду, состоящую из 10% раствора альбумина и среды 199, в которую добавляли антибиотик и гепарин.

Костный мозг суспензировали в 1 мл среды, а затем брали 0,1 мл суспензии костного мозга в среде, добавляли 0,1 мл среды и 0,1 мл

раствора нейтрального красного. Полученную смесь оставляли на 10 минут, а затем исследовали под микроскопом в камере Горяева при увеличении 200, подсчитывая островки в 225 больших квадратах (Захаров, Рассохин, 2002).

Полученные экспериментальные данные были подвергнуты математико-статистической обработке с использованием программы Statistica 6.0. Характер распределения данных определяли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для установления статистически достоверных межгрупповых различий применяли критерий Манна – Уитни. Достоверными считали различия при значении  $p < 0,05$ . Полученные данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартиля.

**Результаты и обсуждение.** Нашими исследованиями было установлено, что под влиянием полисахарида в крови подопытных животных на третьи сутки опыта количество эритроцитов достоверно увеличивалось на 22,8 % ( $p < 0,05$ ), а гемоглобина – на 16,3% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем.

На 5 сутки эксперимента количество эритроцитов и гемоглобина достоверно возрастало под влиянием полисахарида и максимально превосходило контроль на 29,3% ( $p < 0,05$ ) и 19,5% ( $p < 0,05$ ) соответственно.

На 10 день опыта количество эритроцитов и гемоглобина также достоверно увеличивалось по сравнению с контролем, однако не наблюдалось достоверно значимых различий по отношению к 5 суткам эксперимента.

К 15 суткам введения полисахарида количество эритроцитов на 14,5% ( $p < 0,05$ ) превосходило контрольные значения, а количество гемоглобина не имело достоверно значимых различий с контрольными показателями. Данные исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1

Действие полисахарида крапивы двудомной на эритроцитарную систему крови

	Контроль (n=6)	3 сутки (n=6)	5 сутки (n=6)	10 сутки (n=6)	15 сутки (n=6)
Эритроциты *10 <sup>12</sup> /л	6,15 (6,00;6,40)	7,55* (7,50;7,70)	7,95* (7,80;8,20)	8,05* (7,98;8,20)	7,04* (6,93;7,10)
Гемоглобин г/дл	12,19 (12,00;12,55)	14,18* (13,9;14,3)	14,57* (14,35;14,7)	14,50* (13,98;15,1)	11,95 (11,8;12,00)

*Примечание.* Здесь и далее \* – статистически достоверные различия по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Относительное содержание моноцитов под влиянием полисахарида достоверно увеличивалось к 5-10 суткам эксперимента. Их абсолютное число также достоверно возрастало под действием

полисахаридного препарата, превосходя контроль в 1,97 ( $p < 0,05$ ) и 3,4 раза ( $p < 0,05$ ) в эти же сроки соответственно.

Относительное содержание лимфоцитов достоверно возрастало на 3 день введения полисахаридного препарата и оставалось неизменным на протяжении 5-10 суток опыта. А их абсолютное число максимально превосходило контрольные значения на 15,7% ( $p < 0,05$ ) также на 3 день опыта.

Введение полисахарида вызывало увеличение общего числа лейкоцитов в крови подопытных крыс на 3 день эксперимента на 10,7% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. На 5 сутки опыта происходило максимальное снижение общего количества лейкоцитов на 18,6% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольными значениями. В последующие дни эксперимента численность лейкоцитов возрастала, но на 10 сутки введения препарата она была ниже, чем в контроле на 8,5% ( $p < 0,05$ ) и только на 15 день исследования количество лейкоцитов возвращалось к норме.

При увеличении общего количества лейкоцитов относительное содержание сегментоядерных нейтрофилов на 3 сутки эксперимента у подопытных животных достоверно снижалось по сравнению с контролем. На 5 день введения препарата процентное содержание сегментоядерных нейтрофилов достоверно возрастало по отношению к контрольным показателям на фоне снижения общего числа лейкоцитов. Однако их абсолютное число практически не изменялось на протяжении всего эксперимента.

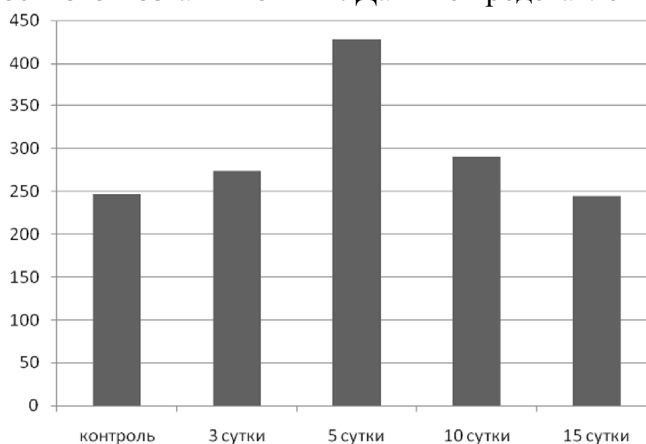
Таблица 2

Изменение общего числа лейкоцитов и их состава под влиянием полисахарида крапивы двудомной

	Контроль (n=6)	3 сутки (n=6)	5 сутки (n=6)	10 сутки (n=6)	15 сутки (n=6)
Лейкоциты*10 <sup>9</sup> /л	14,05 (13,8;14,5)	15,55* (15,2;15,8)	11,85* (11,5;12,0)	12,95* (12,8;13,1)	13,95 (13,7;14,1)
Лимфоциты %	77,0 (75,0;78,0)	80,5* (80,0;82,0)	80,5* (80,0;81,0)	80,0* (79,0;80,0)	77,5 (76,0;79,0)
Моноциты %	1,5 (1,0;2,0)	2,0 (1,0;2,0)	3,5* (3,0;4,0)	5,5* (5,0;6,0)	2,0 (2,0;2,0)
Сегментоядерные нейтрофилы %	15,5 (15,0;16,0)	13,0* (12,0;14,0)	18,0* (17,0;19,0)	16,0 (15,0;17,0)	14,5* (14,0;15,0)

На 15 день эксперимента общее количество лейкоцитов и относительное содержание моноцитов, лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов практически возвращались к контрольным показателям. Полученные данные представлены в таблице 2.

На протяжении всего эксперимента наблюдались изменения в структуре костного мозга животных. Данные представлены на рис. 1.



Р и с . 1 . Изменение общего числа эритробластических островков костного мозга крыс под действием полисахарида крапивы двудомной

Количество эритробластических островков в структуре костного мозга на 3 сутки у подопытных животных увеличивалось незначительно по сравнению с контролем, в основном за счет эритробластических островков 3 класса зрелости. На 5 сутки эксперимента общее количество островков достоверно возрастало максимально на 22,8% ( $p < 0,05$ ) в соотношении с контролем, при этом появлялись новые эритробластические островки 1 класса и особенно увеличивалась численность эритробластических островков 2 и 3 классов зрелости. Количество островков 3 класса зрелости возрастало в 2,8 раза ( $p < 0,05$ ), а 2 класса – в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), что происходило за счет ускорения процесса созревания эритробластов и увеличения выхода в кровь количества зрелых эритроцитов.

На 10 сутки опыта количество эритробластических островков 1 и 2 классов оставалось повышенным, а численность островков 3 класса зрелости снижалось до нормы. На 15 день введения полисахарида не наблюдалось достоверно значимых различий количества эритробластических островков по сравнению с контролем.

**Выводы:** 1. Введение препарата полисахарида крапивы двудомной в организм здоровых животных стимулирует процессы кроветворения. 2. Под влиянием полисахарида крапивы двудомной достоверно возрастает общее количество эритробластических островков костного мозга экспериментальных животных на 5-10 сутки эксперимента. 3. Под действием полисахарида возрастает количество эритроцитов на 29,3% и уровень гемоглобина на 19,5% в крови подопытных животных. 4. Введение в организм животных препарата полисахарида крапивы двудомной изменяет относительное

содержание отдельных популяций лейкоцитов и их абсолютное количество:

- увеличивает абсолютное количество лимфоцитов и их относительное содержание к 3 суткам опыта, а также увеличивает относительное содержание моноцитов в крови в течение всего эксперимента;

- уменьшает общую численность лейкоцитов, но при этом увеличивает процентное содержание сегментоядерных нейтрофилов.

### **Список литературы**

*Зайцева Г.Н., Афанасьева Т.И.* 1957. Количественное определение углеводов методом нисходящей хроматографии на бумаге // Биохимия. Т. 22. Вып. 6. С.1035-1042.

*Захаров Ю.М., Рассохин А.Г.* 2002. Эритробластический островок. М.: Медицина. 280 с.

*Калинкина О.В., Сычев И.А.* 2014. Действие полисахарида крапивы двудомной на физическую работоспособность животных, процессы фагоцитоза и резистентность мембран эритроцитов // Российский медико-биологический вестник. № 1. С. 153-158

*Кочетков Н.К.* 1967. Химия углеводов. М.: Химия. 672 с.

*Криштанова Н.А.* 2005. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств // Вестн.ВГУ. Сер.: Химия. Биология. Фармация. № 1. С. 212-221

*Сычев И.А., Смирнов В.М., Порядин Г.В.* 2007. Действие полисахаридов Донника желтого на систему кроветворения в норме и при патологии// Российский медико-биологический вестник. № 1. С. 50-58

## **THE EFFECT OF POLYSACCHARIDE OF THE GREAT NETTLE ON BLOOD AND HEMATOSIS OF THE LABORATORY RATS**

**O.V. Kalinkina, I.A. Sychev**

Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan

We investigated the influence of the great nettle polysaccharide on blood and hematosiс in the laboratory rats. Polysaccharide has been isolated from air-dry raw material, its qualitative and quantitative monosaccharide composition has been determined. The effect of polysaccharide on blood of healthy animals has been studied on Wistar's rats. Blood samples were used both for erythrocyte and hemoglobin count, and determination of the total number and composition of leukocytes. Simultaneously, bone marrow

isolated from the femoral bone was examined. Our results show that polysaccharide of the great nettle stimulates the processes of hematosiis resulting in the increase of the total number of erythroblastic islets of bone marrow. Polysaccharide adiministration causes the increase of erythrocyte count and hemoglobin level, the increase of relative monocyte content throughout the experiment as well as the decrease of the total leukocyte count; the percentage of segmented neutrophils increases.

**Keywords:** *polysaccharide, erythrocytes, hemoglobin, leukocytes, bone marrow.*

*Об авторах:*

КАЛИНКИНА Оксана Владимировна – старший преподаватель кафедры общей химии с курсом биоорганической и органической химии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России», 390026, Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9, e-mail: kalinkina.oksanka@mail.ru

СЫЧЕВ Игорь Анатольевич – доктор биологических наук, заведующий кафедрой общей химии с курсом биоорганической и органической химии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России», 390026, Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9, e-mail: obschhim@mail.ru

Калинкина О.В. Действие полисахарида крапивы двудомной на кровь и кроветворение / О.В. Калинкина, И.А. Сычев // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. 2017. № 1. С. 62-68.