

УДК 615.322:547.458.015.4:612.111.3

Влияние полисахаридов календулы лекарственной на эритропоэз животных с индуцированным стрессом

Ванина Д.С., Сычев И.А., Бяловский Ю.Ю., Аронова М.А., Синельникова Е.С., Сапунова Д.А.

Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации 390000, Рязань, ул. Полонского, д. 13

Цель. Изучение влияния полисахаридов соцветий календулы на процесс эритропоэза у крыс, на модели иммобилизационного стресса.

Методы исследования. Исследование проведено на самцах крыс Вистар ($n = 24$) с разделением на три равновеликие группы: I – контроль, II – стресс, III – стресс после пятидневного внутрибрюшинного введения полисахаридов соцветий календулы. Животные всех групп содержались в стандартных условиях вивария. Модель иммобилизационного стресса создавалась помещением животных в рестрейнер на 48 часов без пищи и воды. По окончании эксперимента для дальнейших исследований изымались образцы крови и бедренной кости. Определяли: количество эритроцитов и гемоглобина крови, а также изменения видов и количества эритробластических островков костного мозга бедренных костей.

Результаты. Установлено, что предварительное введение полисахаридов из соцветий календулы снижает интенсивность реакции эритропоэза на стресс, ограничивая количество эритробластических островков 1-го класса и увеличивая численность эритроцитов периферической крови за счёт мобилизации в кровотоки молодых форм эритроцитов из костного мозга. Превентивное введение полисахарида было также сопряжено с отсутствием значимого увеличения уровня гемоглобина крови, свойственного физиологической реакции на стресс, но сопровождалось достоверным снижением его концентрации в эритроцитах, а также уменьшением объёма последних.

Заключение. Предварительное интраперитонеальное введение полисахаридов соцветий календулы существенно модифицирует адаптивные реакции костного мозга на иммобилизационный стресс у крыс, что проявляется значительно менее интенсивной активацией эритропоэза и повышенной мобилизацией в кровотоки молодых форм эритроцитов.

Ключевые слова: полисахариды календулы; эритропоэз; эритробластические островки; эритроциты; гемоглобин; иммобилизационный стресс.

Для цитирования. Ванина Д.С., Сычев И.А., Бяловский Ю.Ю., Аронова М.А., Синельникова Е.С., Сапунова Д. А. Влияние полисахаридов календулы лекарственной на эритропоэз животных с индуцированным стрессом. *Патогенез*. 2024; 22(4): 39–43.

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.04.39-43

Для корреспонденции: Ванина Дарья Сергеевна, e-mail: sirotkina.dashulya@inbox.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 29.11.2024.

The effect of calendula polysaccharides on erythropoiesis in animals with induced stress

Vanina D.S., Sychev I.A., Byalovsky Yu. Yu., Aronova M.A., Sinelnikova E.S., Sapunova D.A.

Academician I.P. Pavlov Ryazan State Medical University
Polinskiy Str. 13, Ryazan 390000, Russian Federation

Purpose. To study the effect of polysaccharides of calendula inflorescences on the erythropoiesis process in rats, on models of immobilization stress.

Research methods. The study was conducted on male Wistar rats ($n = 24$) divided into three equal groups: I – control, II – stress, III – stress after five days of intraperitoneal administration of calendula inflorescence polysaccharides. Animals of all groups were kept in standard vivarium conditions. The immobilization stress model was created by placing animals in a restrain for 48 hours without food and water. At the end of the experiment, blood and femoral bone samples were taken for further research. The number of red blood cells and hemoglobin in the blood were determined, as well as changes in the types and number of erythroblastic islets of the femoral bone marrow.

Results. It was found that the preliminary administration of polysaccharides from calendula inflorescences reduces the intensity of erythropoiesis response to stress, limiting the number of class 1 erythroblastic islets and increasing the number of peripheral blood erythrocytes due to the mobilization of young forms of erythrocytes from the bone marrow into the bloodstream. Preventive administration of polysaccharide is also associated with the absence of a significant increase in the level of hemoglobin in the blood, characteristic of a physiological response to stress, but is accompanied by a significant decrease in its concentration in red blood cells, as well as a decrease in the volume of the latter.

Conclusion. Preliminary intraperitoneal administration of calendula inflorescence polysaccharides significantly modifies the adaptive responses of the bone marrow to immobilization stress in rats, which is manifested by significantly less intense activation of erythropoiesis and increased mobilization of young forms of erythrocytes into the bloodstream.

Keywords: calendula polysaccharides; erythropoiesis; erythroblastic islets; erythrocytes; hemoglobin; immobilization stress.

For citation: Vanina D.S., Sychev I.A., Byalovsky Yu.Yu., Aronova M.A., Sinelnikova E.S., Sapunova D.A. [The effect of calendula polysaccharides on erythropoiesis in animals with induced stress]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2024; 22(4): 39-43. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.04.39-43

For correspondence: Vanina Darya Sergeevna, e-mail: sirotkina.dashulya@inbox.ru

Financing. The study has no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Received: 29.11.2024.

Введение

Разработка эффективных способов повышения устойчивости к стрессу, поиск новых возможностей оптимизации этапов экстренной и длительной адаптации, остается одной из актуальнейших проблем современной физиологии и медицины [1, 2]. Особенно перспективным направлением в этом плане является поиск, а также изучение механизмов стресс-лимитирующего влияния новых широкодоступных естественных адаптогенов, к числу которых относятся, в частности, некрахмальные гетерополисахариды растений (пектины), в большом количестве содержащиеся в соцветиях календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) – однолетнего травянистого растения из семейства астровых [3, 4]. Экстракты, настойки и отвары соцветий календулы, богатых пектинами, используются в официальной и народной медицине как противовоспалительное, обезболивающее, желчегонное, гемостатическое и регенерирующее средство [4].

Известно, что экспериментальный стресс в стадии тревоги сопровождается увеличением числа эритроцитов в крови животных, вследствие их мобилизации из костномозговых и сосудистых депо в течение первых суток [5], после чего констатируется заметное уменьшение их количества, что объясняют снижением осмотической резистенции и повышенным гемолизом, а также угнетением эритропоэза со снижением числа эритробластических островков (ЭБО) в костном мозге [5-7].

Вместе с тем показано, что полисахариды соцветий календулы (ПСК) в эксперименте способны стимулировать эритропоэз как у здоровых животных, так и при моделировании железодефицитной анемии [8, 9], что обосновывает актуальность практически неизученной проблемы характера и степени возможного адаптогенного воздействия ПСК на эритропоэз при экспериментальном стрессе.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились на крысах линии Wistar в соответствии с требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных, а также в соответствии с Приказом Минздрава социального развития от 23 августа 2010 года № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики».

Объектом исследования являлись крысы-самцы линии Wistar ($n = 24$), в возрасте от 6 месяцев до 1 года,

с массой тела 200–250 г, без видимых патологий развития и признаков заболеваний, содержащиеся в стандартных условиях вивария, из числа которых выделены 3 равновеликие ($n = 8$) группы:

I – контроль (интактные животные);

II – стресс (48-часовая иммобилизация);

III – ПСК+стресс (превентивное пятидневное введение ПСК с последующей 48-часовой иммобилизацией).

ПСК получали общепринятым методом из воздушно-сухого аптечного сырья цветков календулы: ПСК экстрагировали на водяной бане (85–90°, 60 мин) в смеси 0,5% растворов щавелевой кислоты и оксалата аммония в соотношении 1:1, при соотношении сырьё / экстрагент 1:50. Охлажденный фильтрат осаждали трёхкратным объемом 96% этилового спирта. Осадок после центрифугирования при 2600 об/мин 10 мин и промывали 80% этиловым спиртом, высушивали (60 мин при 60°) и взвешивали. Навеску сухого осадка растворяли в физрастворе (5:95). Для подтверждения наличия в растворе кислых ПСК проводилась реакция Фелинга [10].

Модель иммобилизационного стресса создавалась по стандартной методике [11] помещением животных в рестрейнер без пищи и воды на 48 часов.

Всем особям в III группе перед созданием модели стресса ежедневно в течение 5 суток, в одно и то же время внутривенно вводили раствор ПСК в дозе 0,1 г/кг массы тела.

По завершении моделирования стресса животных всех групп выводили из эксперимента путём передозировки средства для наркоза «Ксила» или «Золетил».

У всех особей для исследования брали периферическую кровь и бедренные кости. В периферической крови на гемоанализаторе марки URIT-5160 определяли численность и средний объём эритроцитов, уровень гемоглобина крови и его концентрацию в эритроцитах. В костном мозге бедренных костей, используя метод Ю.М. Захарова и А.Г. Рассохина [12], определяли общее количество эритробластических островков с их распределение по классам зрелости.

Полученные данные обработаны с использованием программ Statistica 13.0 и Microsoft Excel. Статистические данные были проверены на нормальность распределения и рекомендованы к параметрическому анализу. Достоверность различий средних величин оценивали попарно, при помощи t-критерия Стьюдента. Различия считали значимыми при значениях $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

Данные, полученные при исследованиях красной крови, представлены в **табл. 1**.

Среднее количество эритроцитов крови во II группе практически не отличалось от соответствующего показателя в I группе, в то время как в III группе оно увеличивалось на 14,6% ($p \leq 0,05$). Вместе с тем, в III группе, сравнительно с первой, констатируется снижение на 3,7% среднего объема эритроцита ($p \leq 0,05$), тогда как во второй группе существенных различий в данном параметре при том же сравнении не отмечено.

Уровень гемоглобина крови, сравнительно с контрольной группой, увеличивался на 5,2% во II группе ($p \leq 0,05$) и оставался практически неизменным в III группе. На этом фоне показатели средней концентрации гемоглобина в эритроците, сравнительно с I группой увеличивались на 3,9% во II группе и уменьшались на 8,0% в III группе ($p \leq 0,05$).

При определении числа ЭБО костного мозга крыс установлено, что общее их количество превышало соответствующий показатель в контроле во II группе на 28,5%, а в III – на 9,4% ($p \leq 0,05$) (**табл. 2**).

В то время как увеличение числа ЭБО во II группе происходило преимущественно за счет повышения числа островков 1-го и 2-го классов (на 43,5 и 20,7%, соответственно), то в III группе аналогичный

достоверный подъем данной величины на 17,6% отмечен лишь для 2-го класса. Небольшое увеличение средних величин количества ЭБО 3-го класса в экспериментальных группах относительно соответствующих показателей в контрольной группе статистически не подтверждалось.

Обсуждение

Анализ полученных результатов позволяет заключить, что иммобилизационный стресс у крыс сопровождается резко выраженной активацией эритропоэза с увеличением количества ЭБО преимущественно 1-го и 2-го классов зрелости, что приводит к некоторому росту числа эритроцитов и, главным образом, увеличению гемоглобина крови за счет повышения его внутриклеточной концентрации.

Тот же вид стресса при предварительном введении ПСК (III группа) сопровождается сравнительно меньшей мультипликацией ЭБО I класса, некоторое увеличение числа которых, в сравнении с контрольной группой, находится в пределах статистической погрешности.

Тем не менее, III группа, сравнительно с контролем, характеризуется наиболее значимым увеличением числа эритроцитов с некоторым снижением их клеточного объема и внутриклеточной концентрации гемоглоби-

Таблица 1.

Основные параметры красной крови в экспериментальных и контрольной группах при иммобилизационном стрессе у крыс ($M \pm m$)

Показатели	Группы		
	I группа (контроль)	II группа (стресс)	III группа (ПСК+ стресс)
Эритроциты ($\times 10^{12}/л$)	6,31 \pm 0,19	6,49 \pm 0,08	7,23 \pm 0,06 *
Гемоглобин (г/л)	143,17 \pm 0,05	150,67 \pm 0,05 *	143,33 \pm 0,06
Средний объем эритроцита (fL)	55,13 \pm 0,03	55,15 \pm 0,03	53,07 \pm 0,04 *
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г\л)	406,67 \pm 0,02	422,67 \pm 0,02 *	374,17 \pm 0,02 *

Примечание. Значком * отмечены показатели, статистически значимо отличающиеся от соответствующих в контрольной группе ($p < 0,05$).

Таблица 2.

Количественные изменения эритробластических островков костного мозга крыс в экспериментальных и контрольной группах при иммобилизационном стрессе ($M \pm m$)

Классы ЭБО	Группы		
	I группа (контроль)	II группа (стресс)	III группа (ПСК+стресс)
1-й класс	95,1 \pm 5,1 (45,0)	136,5 \pm 5,9 (50,4) *	99,7 \pm 4,2 (43,0)
2-й класс	69,4 \pm 4,0 (32,7)	83,8 \pm 4,1 (30,7) *	81,6 \pm 3,6 (34,8) *
3-й класс	47,3 \pm 2,9 (22,3)	51,9 \pm 3,1 (18,9)	51,5 \pm 3,2 (22,2)
Итого ($\times 10^3$)	211,8 \pm 4,7	272,2 \pm 4,9 *	231,8 \pm 3,9 *

Примечания. 1. Курсивом в скобках указана внутригрупповая доля ЭБО данного класса в %. 2. Значком * отмечены показатели, статистически значимо отличающиеся от соответствующих в контрольной группе ($p \leq 0,05$)

на. Уровень гемоглобина крови при этом практически не отличается от соответствующего показателя в контрольной группе.

Поскольку подобное увеличение количества эритроцитов крови в III группе не может быть подкреплено объективными признаками соответственного уровня активации эритропоэза, то имеются основания полагать, что в данном случае увеличение числа эритроцитов с сохранением физиологического уровня гемоглобина крови становится возможным преимущественно за счет повышенной мобилизации в периферический кровоток молодых форм эритроцитов из костного мозга, чем может быть объяснено отмеченное нами в данной группе небольшое снижение таких показателей, как средний объём эритроцита и средняя внутриклеточная концентрация гемоглобина.

Совокупность выявленных изменений позволяет сделать выводы о наличии существенного модифицирующего влияния предварительного введения ПСК на течение иммобилизационного стресса у крыс в аспекте адаптивных реакций эритропоэза,

Заключение

Предварительное интраперитонеальное введение полисахаридов соцветий календулы модифицирует адаптивные реакции костного мозга на иммобилизационный стресс у крыс, что проявляется значительно менее интенсивной активацией эритропоэза и повышенной мобилизацией в кровоток молодых форм эритроцитов.

Список литературы

1. Эбзеева Е.Ю., Полякова О.А. Стресс и стресс-индуцированные расстройства. *Медицинский совет*. 2022; 16(2): 127–133. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-2-127-133
2. Есин Р.Г., Есин О.Р., Хакимова А.Р. Стресс-индуцированные расстройства. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. 2020; 120(5): 131–137. DOI: 10.17116/jnevro2020120051131
3. *Календула лекарственная описание*. Режим доступа: <https://ekopiter.ru/spravochnik/kalendula-lekarstvennaya/> Дата обращения: 05.09.2024.
4. Афанасьева П.В., Куркина А.В. Перспективы комплексного использования сырья календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2014; 16(5-2): 980–982.
5. Мамылина Н.В., Павлова В.И., Рассохин А.Г., Янов А.Ю. Показатели костномозгового кроветворения и содержание продуктов липопероксидации в костном мозге у животных, перенесших эмоционально-болевого стресс. *Уральский медицинский журнал*. 2012; 1(93): 119–123.
6. Мамылина Н.В. Влияние эмоционально-болевого стресса на показатели эритропоэза в костном мозге крыс. *Вестник Челябинского государственного педагогического университета*. 2009; 4: 320–329.

Сведения об авторах:

Ванина Дарья Сергеевна — ассистент кафедры патофизиологии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0009-0009-0690-3300>

7. Вычужанова Е.А. Влияние хронического стресса на острую стресс-реакцию у крыс. *Наука и образование: проблемы, идеи, инновации*. 2015; 1(1): 9–11.
8. Ерзылева Т.В. Влияние растительных полисахаридов на кровь и кроветворение в норме и при патологии. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2015; 3: 97–102.
9. Ванина Д. С., Сычев И. А., Бяловский Ю. Ю., Лаксаева Е. А., Косова Ю.Д., Кокина Д. Г. Действие полисахарида цветков календулы на животных со свинцово - искусной анемией. *Современная наука. Серия: Естественные и технические науки*. 2024; 3-2: 10–16. DOI: 10.37882/2223-2966.2024.3-2.04
10. Фархутдинов Р.Г., Кудашкина Н.В., Зайнуллин Р.А., Хасанова С.Р., Латыпова Г.М., Иванов И.И. *Основы фитохимического анализа*. Уфа: РИЦ БашГУ 2016. 288 с.
11. Бяловский Ю.Ю., Ракитина И.С. *Экспериментальные модели в курсе патофизиологии*. Рязань: РИО РязГМУ, 2018. 622 с.
12. Захаров Ю. М., Рассохин А. Г. *Эритробластический островок*. Москва: Медицина, 2002. 279 с.

References

1. Ebzееva E.Yu., Polyakova O.A. [Stress and stress-induced disorders]. *Meditinskii sovet [Medical Council]*. 2022; 16(2): 127–133. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-2-127-133. (in Russian)
2. Esin R.G., Esin O.R., Hakimova A.R. [Stress-induced disorders]. *Zhurnal neurologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova [S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry]*. 2020; 120(5): 131–137. DOI: 10.17116/jnevro2020120051131 (in Russian)
3. [Calendula officinalis description]. Available at: <https://ekopiter.ru/spravochnik/kalendula-lekarstvennaya/> Retrieved: 05.09.2024. (in Russian)
4. Afanasyeva P.V., Kurkina A.V. [Prospects for the complex use of raw materials of calendula officinalis L.]. *Izvestia Samarskogo nauchnogo centra Rossiiskoi Akademii nauk [Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences]*. 2014; 16(5-2): 980–982. (in Russian)
5. Mamylyina N.V., Pavlova V.I., Rassoxin A.G., Yanov A.Yu. [Bone marrow hematopoiesis indices and the content of lipid peroxidation products in the bone marrow of animals that have undergone emotional-pain stress]. *Ural'skii medicinskii zhurnal [Ural Medical Journal]*. 2012; 1(93): 119–123. (in Russian)
6. Mamylyina N.V. [The influence of emotional-painful stress on the indices of erythropoiesis in the bone marrow of rats]. *Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta [Bulletin of the Chelyabinsk State Pedagogical University]*. 2009; 4: 320–329. (in Russian)
7. Vyuchuzhanova E.A. Effect of Chronic Stress on Acute Stress Response in Rats. *Nauka i obrazovaniye: problemy, idei, innovatsii [Science and education: problems, ideas, innovations]*. 2015; 1(1): 9–11. (in Russian)
8. Erzyleva T.V. [The influence of plant polysaccharides on blood and hematopoiesis in norm and pathology]. *Nauka molodykh (Eruditio Juvenium)*. *Science of the young (Eruditio Juvenium)*. 2015; 3: 97–102. (in Russian)
9. Vanina D.S., Sychev I.A., Byalovskij Yu.Yu., Laksaeva E.A., Kosova Yu.D., Kokina D.G. [The effect of calendula flower polysaccharide on animals with lead-acetic anemia]. *Sovremennaya nauka: aktual'nyye problemy teorii i praktiki. Seriya: Yestestvennyye i tekhnicheskkiye nauki [Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice, a series: Natural and Technical Sciences]*. 2024; 3-2: 10–16. DOI: 10.37882/2223-2966.2024.3-2.04. (in Russian)
10. Farkhutdinov R.G., Kudashkina N.V., Zainullin R.A., Khasanova S.R., Latypova G.M., Ivanov I.I. [Fundamentals of phytochemical analysis]. Ufa: RIC BashSU, 2016. 288 p. (in Russian)
11. Byalovskij Yu.Yu., Rakitina I.S. [Experimental models in the course of pathophysiology]. Ryazan: RIO RyazGMU, 2018. 622 p. (in Russian)
12. Zakharov Yu. M., Rassoxin A. G. [Erythroblastic islet]. Moscow: Medicine, 2002. 279 p. (in Russian)

Сычев Игорь Анатольевич — доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой общей химии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0009-0003-3684-8775>

Бяловский Юрий Юльевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-6769-8277>

Аронова Мария Александровна — кандидат педагогических наук, доцент кафедры биохимии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0009-0001-7364-4566>

Синельникова Елена Сергеевна — студентка Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0009-0001-9323-6869>

Сапунова Диана Алексеевна — студентка Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0009-0002-2936-8207>