

К ВОПРОСУ РЕГИСТРАЦИИ ДЗЕТА-ПОТЕНЦИАЛА ЭРИТРОЦИТАРНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА В ПРИСУТСТВИИ ОЛЕИНОВОЙ И ПАЛЬМИТИНОВОЙ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

В.Г. Артюхов¹, Е.С. Баева², М.Х. Хамдамова¹

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»,

²ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко

Поступила в редакцию 03.06.2024 г.

Аннотация. Дзета-потенциал (ζ -потенциал) представляет собой уникальную систему, формирующуюся на границе двух фаз, одна из которых является жидкостью. Применительно к биологическим мембранам, в частности, красных клеток крови, формирование ζ -потенциала предопределяется отрицательной величиной поверхностного потенциала из-за наличия в них сиалогликопротеидов, с другой стороны – ионным микроокружением плазмы. В современной литературе описано большое количество факторов, определяющих величину слоя Стерна – структурная целостность мембраны, работа антиоксидантных систем клетки, наличие проникающих ионов и иные. В настоящей работе представлены результаты исследования дзета-потенциала эритроцитов крови человека в условиях нагрузки жирными кислотами – олеиновой и пальмитиновой в дозах $1,53 \times 10^{-5}$, $1,53 \times 10^{-4}$ моль/л и $1,74 \times 10^{-5}$, $1,74 \times 10^{-4}$ моль/л соответственно. Установлено, что пальмитиновая жирная кислота способствует активации свободнорадикальных процессов в эритроцитах и проявляет большую активность в отношении красных клеток крови. Методами регистрации биофлуоресценции и динамического светорассеяния показано, что пальмитиновая кислота в зависимости от используемой дозы и времени инкубации с красными клетками крови вызывает изменение их поверхностного потенциала (в 5 раз при инкубации в течение 3 ч), что лишь усиливается при возрастании временного промежутка. Параметры флуоресценции эритроцитов в присутствии олеиновой кислоты – светосумма максимальной вспышки (S) и интенсивность максимальной вспышки (Imax) – имеют тенденцию к возрастанию относительно контроля при инкубации исследуемых образцов с течением времени. Полученные данные свидетельствуют об инициации свободнорадикальных процессов, так как регистрируемые показатели указывают на свечение с последующим затуханием. В живых системах изменение соотношения жирных кислот в клетках (мембранах) может приводить к нарушению их метаболизма, а также влиять на реологические свойства жидкости и текучесть биомембран.

Ключевые слова: дзета-потенциал, эритроциты, оксигемоглобин, олеиновая кислота, пальмитиновая кислота, биофлуоресценция

Эритроцит представляет собой небольшую тороидальную диэлектрофоретическую клетку, управляемую электромагнитным полем, которая поддерживает свой дзета-потенциал (ζ) при помощи диэлектрической проницаемости между отрицательно заряженной поверхностью плазматической мембраны и положительно заряженным прилегающим слоем Стерна. Существует мнение [1], что дзета-потенциал также определяется как сегнетоэлектрическими (хлорид-ион), так и ферромагнитными воздействиями среды (сывороточное железо). Величина суммарного отрицательно-

го заряда обеспечивается сиалогликопротеиновой оболочкой, поддерживающей дистантные взаимодействия между отдельными эритроцитами на минимальном расстоянии порядка 18 нм. Согласно авторам [2], определение электрофоретической подвижности или дзета-потенциала красных кровяных телец – простой способ оценки вязкости крови. Постоянство величины дзета-потенциала эритроцитов – залог поддержания текучести крови и предотвращения агрегации эритроцитов.

Вязкость является важным фактором, определяющим постоянство сосудистого гомеостаза. Вязкость крови, в основном определяемая уров-

нем гематокрита, деформируемостью и агрегацией эритроцитов, в нормальных физиологических условиях вариабельна ввиду различий в наследственности, географическом местоположении человека и других факторов. При патологических состояниях изменения вязкости крови обычно коррелируют с нарушением функции эндотелиальных клеток и изменениями напряжения сдвига, создаваемого кровотоком, что может привести к повреждению системы кровообращения и связанных с ней тканей и органов (сердечно-сосудистые заболевания, диабет, геморрагический шок и заболевания почек) [3-5]. При лечении этих патологий большое внимание уделяется регулированию вязкости крови, что имеет решающее значение для успешного лечения и предотвращения нежелательных синдромов [6].

Показано, что при хранении эритроцитов для гемотрансфузии происходит снижение их дзета-потенциала на 42%, а деформируемости – на 134%. Лизис лейкоцитов при этом не приводит к снижению дзета-потенциала красных клеток [7]. Известно, что золотое сечение, (функция $\Phi_{\text{иФ}}$), представляющее собой геометрическую математическую меру в пределах четкой и желаемой кривизны эритроцита, необходимо для эффективной утилизации CO_2 в нашем организме. Микроокружение клеток (биополе) способно как усилить дзета-потенциал, так и восстановить золотое сечение в эритроцитах человека. Показано, что сеансы иммерсионной терапии с использованием биополей позволяют модулировать дзета-потенциал, восстанавливать золотое сечение и уменьшать реологические изменения в эритроцитах человека [1]. Следовательно, поддержание двояковогнутой формы эритроцитов – необходимое условие их успешного функционирования в кровяном русле. По мере старения этих клеток происходят, в первую очередь, изменения динамической структуры их мембран, что находит отражение и в перераспределении величины поверхностного заряда. Двояковогнутые клетки постепенно заменяются либо сферическими, либо неправильной формы ввиду потерь мембранного вещества, вызванного микровезикуляцией. Сопутствующее увеличение внутриклеточного Ca^{2+} (в первую очередь посредством Гардос каналов нескольких подтипов, KCNN4, или KCa3.1) [8-11]) или активация протеинкиназы C приводят к образованию и высвобождению микровезикул в эритроцитах человека [12]. Старение эритроцитарных клеток сопряжено и с перераспределением уровня жирных кислот и фосфолипидов мембран, нако-

плением холестерина, что постепенно приводит к изменению антиоксидантной и гемолитической защиты клеток, энергетического гомеостазиса в целом [13]. Жирные кислоты, входящие в состав клеточной мембраны, вступают в реакции со свободными радикалами благодаря наличию у них цисметиленовых структур [14]. Во избежание нарушения физико-химических свойств эритроцита необходимо поддерживать оптимальное соотношение и состав различных жирных кислот в организме, в первую очередь, олеиновой и пальмитиновой [15-18]. Основываясь на представлении о возможном изменении поверхностного потенциала клеток при нарушении электростатических взаимодействий между макромолекулами их плазматических мембран в условиях окислительного стресса и перераспределении жирных кислот, целью работы явилось исследование дзета-потенциала эритроцитарных клеток в присутствии олеиновой и пальмитиновой кислот.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе использовали суспензии эритроцитов, полученные из цельной крови путем ее разведения 0,9% раствором NaCl и последующим центрифугированием в течение 5 минут при 2500 об/мин на центрифуге MiniSpin. Пипеткой Пастера осторожно удаляли супернатант. Эритроциты доводили до величины оптической плотности (D) 0,8 при длине волны 495 нм с помощью раствора 0,01 моль/л Na-фосфатного буфера (pH 7,4) на спектрофотометре Shimadzu UV-2401 PC [19].

Для нахождения дзета-потенциала исследуемых образцов использовали метод динамического рассеивания света, позволяющий установить степень и характер взаимодействия между частицами дисперсной системы [20]. Определение дзета-потенциала митохондрий проводили методом электрофоретического светорассеяния на анализаторе Zetasizer Nano ZS («Malvern Instruments», Великобритания). Измерения проводили в U-образной кювете с золотыми электродами при pH 7,4 и температуре 4°C в натрий-фосфатном буфере. Результаты опытов обрабатывали с помощью программного обеспечения.

Интенсивность протекания свободнорадикальных процессов определяли с помощью метода биохемилюминесценции, основанном на реакции каталитического разложения пероксида водорода ионами металла с переходной валентностью — Fe^{2+} , по реакции Фентона. Образовавшиеся при этом свободные радикалы ($\text{R}\cdot$, $\text{RO}\cdot$, $\text{RO}_2\cdot$, $\text{O}_2\cdot$, $\text{OH}\cdot$) всту-

пают в процесс инициации окислительного стресса в исследуемом образце [21]. Скорость протекания свободнорадикальных процессов анализировали на биохемилюминиметре БХЛ-07 (Medozonos, Россия) с программным обеспечением.

В кювету для хемилюминиметра вносили 0,1 мл суспензии эритроцитов, 0,4 мл 0,02 мМ натрий-фосфатного буфера (pH 7,4), 0,4 мл 0,01 мМ FeSO_4 и ставили ее в измерительное гнездо прибора. Быстро вносили 0,1 мл 2% H_2O_2 и переводили кювету в измерительное положение. Кинетическую кривую биохемилюминесценции снимали в течение 60 секунд и определяли следующие показатели: светосумму хемилюминесценции (S), интенсивность вспышки (I_{max}), характеризующие интенсивность свободнорадикальных процессов, и тангенс угла наклона кривой ($\text{tg}\alpha_2$), отражающего общую антиоксидантную активность [22].

Модельные эмульсии получали с применением ультразвукового гомогенизатора Q700, Sound Enclosure, Cup Horn & Chiller компании Qsonica (США), в микропробирках типа эппендорф, на частоте 22 кГц, при интенсивности ультразвукового воздействия 16 Вт/см², необходимой и достаточной для реализации максимально эффективного режима развитой кавитации в исследуемой среде [23]. Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью прикладных пакетов Microsoft Excel ($p \leq 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В буферном растворе олеиновая и пальмитиновая кислоты после ультразвукового воздействия представляют собой наноразмерные мицеллы со слабоотрицательным зарядом (-1,2 для олеиновой кислоты и -2,1 для пальмитиновой). Величины дзета-потенциала «теней» эритроцитов крови человека (106 кл/мл) представлены в табл. 1.

Таблица 1

Изменение величин дзета-потенциала теней эритроцитов после воздействия на них олеиновой и пальмитиновой жирных кислот

Условия опытов	Дзета-потенциал, мВ
Нативные «тени» эритроцитов	-29,5±1,0
«Тени» эритроцитов+ Олеиновая кислота, $1,53 \times 10^{-5}$ моль/л	-31,0±1,5
«Тени» эритроцитов+ Олеиновая кислота, $1,53 \times 10^{-4}$ моль/л	-27,4±1,3*
«Тени» эритроцитов+ Пальмитиновая кислота, $1,74 \times 10^{-5}$ моль/л	-37,7±1,1*
«Тени» эритроцитов+ Пальмитиновая кислота, $1,74 \times 10^{-4}$ моль/л	-38,4±1,5*

* Отличия значений статистически достоверны относительно контрольных образцов ($p < 0,05$)

Как следует из представленных данных, модификация «теней» эритроцитов олеиновой кислотой в концентрации $1,53 \times 10^{-4}$ моль/л привела к статистически достоверному повышению мембранного потенциала до $-27,4 \pm 1,3$ мВ (на 7,2%). Воздействие пальмитиновой жирной кислоты в обеих концентрациях на «тени» эритроцитов способствовало понижению мембранного потенциала на 27,7% и 30,2% соответственно.

Присутствие исследуемых жирных кислот в инкубационной среде с гемоглобином способствовало изменению его дзета-потенциала (табл. 2).

Таблица 2

Изменение величин дзета-потенциала гемоглобина человека после воздействия олеиновой и пальмитиновой жирных кислот

Условия опытов	Дзета-потенциал, мВ
Гемоглобин	-3,5±0,5
Гемоглобин+ Олеиновая кислота, $1,53 \times 10^{-5}$ моль/л	-8,2±0,6*
Гемоглобин+ Олеиновая кислота, $1,53 \times 10^{-4}$ моль/л	-4,9±0,4*
Гемоглобин+ Пальмитиновая кислота, $1,74 \times 10^{-5}$ моль/л	-2,3±0,4*
Гемоглобин+ Пальмитиновая кислота, $1,74 \times 10^{-4}$ моль/л	-5,3±0,7*

* Отличия значений статистически достоверны относительно контрольных образцов ($p < 0,05$)

После воздействия олеиновой кислоты в концентрации $1,53 \times 10^{-5}$ моль/л на гемоглобин наблюдалось понижение величины изучаемого потенциала в 2,3 раза, а в концентрации $1,53 \times 10^{-4}$ моль/л – в 1,4 раза относительно контрольных образцов. Статистически достоверное понижение дзета-потенциала гембелка (в 1,5 раза) происходило в среде с пальмитиновой кислотой в концентрации $1,74 \times 10^{-4}$ моль/л. Изменения в потенциале двойного электрического слоя на поверхности клеток могут быть вызваны адсорбцией жирных кислот на их поверхности, а также последующим встраиванием в мембрану своей гидрофобной частью. Изменение заряда гемоглобина во многом обуславливает увеличение или уменьшение количества ионов H^+ , а карбоксильная группа в составе жирных кислот способна диссоциировать на COO^- и H^+ . Таким образом, мы можем предположить, что увеличение или уменьшение заряда гемоглобина происходило преимущественно в тех образцах, где карбоксильная группа диссоциировала более полно. Для проверки данного предположения провели оценку величины pH исследуемых растворов (табл. 3).

Таблица 3
Значения показателя рН нативных и модифицированных жирными кислотами образцов гемоглобина

Образцы	Значение рН
Гемоглобин	5,91±0,03
Гемоглобин+Олеиновая кислота, 1,53х10 ⁻⁵ моль/л	6,38±0,5*
Гемоглобин+Олеиновая кислота, 1,53х10 ⁻⁴ моль/л	6,33±0,2*
Гемоглобин+Пальмитиновая кислота, 1,74х10 ⁻⁵ моль/л	6,17±0,07
Гемоглобин +Пальмитиновая кислота, 1,74х10 ⁻⁴ моль/л	6,28±0,2*

* Отличия значений статистически достоверны относительно контрольных образцов (р < 0,05)

Из таблицы 6 следует, что при добавлении в среду с оксигемоглобином жирных кислот происходит снижение концентрации ионов водорода.

Нами зарегистрированы параметры БХЛ нативных эритроцитов крови доноров до и после внесения олеиновой жирной кислоты в концентрации 1,53х10⁻⁵ и 1,53х10⁻⁴ моль/л (инкубация в течение получаса и 3 ч.). Результаты представлены в таблице 4.

Как следует из представленных данных, зависимость от времени инкубации и дозы модификатора изменение параметров железо-индуцированной хемилюминесценции нативных эритроцитов доноров (максимальная интенсивность вспышки (I_{max}), светосумма (S) и суммарная активность антиоксидантной системы эритроцитов (угол tgα₂)) при термостатировании (37 °С) статистиче-

ски достоверно проявлялось через 3 ч (табл. 4). Показатель суммарной активности антиоксидантной системы эритроцитов (угол tgα₂) под действием олеиновой кислоты (1,53х10⁻⁵ и 1,53х10⁻⁴ моль/л) после 30 мин инкубации увеличивался до значений 53,5±4,4 и 55,4±4,2, а после 3 ч снижался до 40,8±2,8 и 42,9±2,7 соответственно.

Значительные изменения параметров БХЛ эритроцитов происходили после внесения пальмитиновой жирной кислоты (1,74х10⁻⁵ и 1,74х10⁻⁴ моль/л) в инкубационную среду (табл. 5).

После термостатирования в течение 30 мин и 3 ч все показатели хемилюминесценции, индуцированные реакцией Фентона, имели общую тенденцию к повышению. Величина максимальной интенсивности хемилюминесценции (I_{max}) эритроцитов после модификации пальмитиновой кислотой в концентрации 1,74х10⁻⁵ моль/л в течение получаса и 3 ч возросла в 6,5 раз, светосумма S и значение уровня суммарной активности антиоксидантной системы — в 5 раз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов проведенных модельных экспериментов по изучению физико-химических характеристик эритроцитов и гемоглобина крови доноров в присутствии пальмитиновой (1,74х10⁻⁵ и 1,74х10⁻⁴ моль/л) и олеиновой (1,53х10⁻⁵ и 1,53х10⁻⁴) моль/л жирных кислот свидетельствует об их способности активно влиять на изменения

Таблица 4
Параметры хемилюминесценции нативных эритроцитов доноров в присутствии пальмитиновой и олеиновой жирных кислот

Образец	I _{max} , mV	S, mV·sec	tgα ₂
Контроль	145,3±14,8	796,6±54,4	48,5±4,7
Эритроц. 30 мин	132,1±8,2	774,7±41,0	47,0±4,4
Эритроц. 3 ч	129,1±7,4	721,3±55,1	42,3±3,8
Эритроц. + Олеин. к-та 1,53х10 ⁻⁵ моль/л (30 мин)	156,8±11,3	812,4±61,7	53,5±4,4
Эритроц. + Олеин. к-та 1,53х10 ⁻⁴ моль/л (30 мин)	168,7±11,1*	858,5±53,1	55,4±4,2
Эритроц. + Олеин. к-та 1,53х10 ⁻⁵ моль/л (3 ч)	118,4±9,7*	712,3±52,9	40,8±2,8*
Эритроц. + Олеин. к-та 1,53х10 ⁻⁴ моль/л (3 ч)	147,0±8,5*	720,8±45,6	42,9±2,7*

* Отличия значений статистически достоверны относительно контрольных образцов (р < 0,05)

Таблица 5
Параметры хемилюминесценции нативных эритроцитов доноров в присутствии пальмитиновой и олеиновой жирных кислот

Образец	I _{max} , mV	S, mV·sec	tgα ₂
Контроль	145,3±14,8	796,6±54,4	48,5±4,7
Эритроц. 30 мин	132,1±8,2	774,7±41,0	47,0±4,4
Эритроц. 3 ч	129,1±7,4	721,3±55,1	42,3±3,8
Эритроц. + Пальм. к-та 1,74х10 ⁻⁵ моль/л (30 мин)	250,2±19,5*	1340,5±83,8*	88,5±6,2*
Эритроц. + Пальм. к-та 1,74х10 ⁻⁴ моль/л (30 мин)	937,4±48,0*	3401,3±147,8*	284,7±17,9*
Эритроц. + Пальм. к-та 1,74х10 ⁻⁵ моль/л (3 ч)	256,8±15,7*	1370,0±85,2*	103,3±9,1*
Эритроц. + Пальм. к-та 1,74х10 ⁻⁴ моль/л (3 ч)	942,2±46,3*	4047,4±164,5*	325,3±24,6*

* Отличия от нативных эритроцитов статистически достоверны (р < 0,05)

заряда гемоглобина и эритроцитов, на хромофорное микроокружение молекул гембелка, при этом процесс сопровождается высокой интенсивностью образования свободнорадикальных продуктов. Отличия в степени влияния олеиновой и пальмитиновой кислот можно объяснить различиями в размерах гидрофобного хвоста их молекул.

На сдвиг величины дзета-потенциала «теней» эритроцитов под действием жирных кислот в область отрицательных значений могло оказать влияние перераспределение фосфатидилсерина из внутреннего липидного монослоя плазмолеммы во внешний, имеющего отрицательно заряженную карбоксильную группу. Наблюдаемые изменения интенсивности хемилюминесценции являются результатом рекомбинации продуктов ПОЛ, что не противоречит литературным данным по регистрации хемилюминесценции за счёт протекания свободнорадикальных реакций с образованием активных, способных к рекомбинации частиц.

Таким образом, наличие в среде избытка олеиновой и пальмитиновой жирных кислот способствует изменению дзета-потенциала «теней» эритроцитов, величина которого определяется дозой и временем взаимодействия с модификатором. Параметры хемилюминесценции – светосумма максимальной вспышки (S) и интенсивность максимальной вспышки ($I_{\max}$) – имеют тенденцию к возрастанию относительно контроля при инкубации исследуемых образцов с течением времени. Полученные данные позволяют констатировать, что в изучаемой системе происходят свободнорадикальные процессы, потому что параметры хемилюминесценции указывают на свечение с последующим затуханием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Purnell M. C. Bio-field array: a dielectrophoretic electromagnetic toroidal excitation to restore and maintain the golden ratio in human erythrocytes / M. C. Purnell, M.B.A Butawan, R.D. Ramsey // *Physiological Reports*. – 2018. – № 6(11). – P. e13722.
2. Chevalier G. Earthing (Grounding) the Human Body Reduces Blood Viscosity — a Major Factor in Cardiovascular Disease / G. Chevalier, S. T. Sinatra, J. L. Oschman, R. M. Delany // *The Journal of alternative and complementary medicine*. – 2013. – Vol. 19. – № 2. – P. 102–110.
3. Hoque M. Oleic acid may be the key contributor in the BAMLET-induced erythrocyte hemolysis and tumoricidal action / M. Hoque, S. Dave, P. Gupta, M. Saleemuddin // *PLoSOne*. – 2013. – Vol. 8. – № 9. – P. e68390.
4. Pandey M. Erythrocyte membrane stearic to oleic acid ratio in carcinoma of the gall bladder : a preliminary study / M. Pandey, A. K. Khatri, S.S. Dubey, A. Gautam, V. K. Shukla // *European Journal of Surgical Oncology*. – 1998. – Vol. 24. – № 1. – P. 43–46.
5. Wood C. B. Increase of oleic acid in erythrocytes associated with malignancies / C. B. Wood, N. A. Habib, A. Thompson, H. Bradpiece, C. Smadja, M. Hershman, W. Barker, K. Apostolov // *British Medical Journal (Clin Res Ed)*. – 1985. – Vol. 291. – № 6489. – P. 163–165.
6. Chen G. Regulation of blood viscosity in disease prevention and treatment / G. Chen, L. Zha, Y. W. Liu, F. L. Liao, D. Han, H. Zhou // *Chinese Science Bulletin*. – 2012. Vol. 57. – № 16. – P. 1946–1952.
7. Silva D. C. Optical tweezers as a new biomedical tool to measure zeta potential of stored red blood cells / D. C. Silva, C. N. Jovino, C. A. Silva, H. P. Fernandes, M. M. Filho, S. C. Lucena, A. M. Costa, C. L. Cesar, M. L. Barjas-Castro, B. S. Santos, A. Fontes // *PLoSOne*. – 2012. – Vol. 7. – № 2. – P. e31778.
8. Lang P. A. Role of Ca^{2+} -activated K^{+} channels in human erythrocyte apoptosis / P. A. Lang, S. Kaiser, S. Myssina, T. Wieder, F. Lang, S. M. Huber // *American Journal of Physiology-cell Physiology*. – 2003. – Vol. 285. – № 6. – P. C1553–C1560.
9. Skals M. Escherichia coli α hemolysin triggers shrinkage of erythrocytes via KCa3.1 and TMEM16A channels with subsequent phosphatidylserine exposure / M. Skals, U. B. Jensen, J. Ousingawatt, K. Kunzelmann, J. Leipziger, H. A. Praetorius // *Journal of Biological Chemistry*. – 2010. – Vol. 285. – № 20. – P. 15557–15565.
10. Pellegrino M. Modulation of Ca^{2+} -activated K^{+} channels of human erythrocytes by endogenous cAMP-dependent protein kinase / M. Pellegrino, M. Pellegrini // *European Journal of Physiology*. – 1998. – Vol. 436. – № 5. – P. 749–756.
11. Gerlach A. C. Kinasedependent regulation of the intermediate conductance, calciumdependent potassium channel, hIK1 / A. C. Gerlach, N. N. Gangopadhyay, D. C. Devor // *Journal of Biological Chemistry*. – 2000. – Vol. 275, № 1. – P. 585–598.
12. Nguyen D. B. Characterization of Microvesicles Released from Human Red Blood Cells / D. B. Nguyen, T. B. Ly, M. C. Wesseling, M. Hittinger, A. Torge, A. Devitt, Y. Perrie, I. Bernhardt // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2016. – Vol. 38. – № 3. – P. 1085–1099.

13. Гавва Е.М. Омега-3-индекс эритроцитов как показатель, отражающий содержание полиненасыщенных жирных кислот в миокарде больных ишемической болезнью сердца / Е. М. Гавва, Д.А. Царегородцев, И.С. Мамедов, А.В. Стоногин // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2012 — Т.1. — №5 – С. 18-22.
14. Жеребцов Н.А. Биохимия / Н. А. Жеребцов, Т. Н. Попова, В. Г. Артюхов – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2002. – 696 с.
15. Harris W.S. Erythrocyte omega-3 fatty acids increase and linoleic acid decreases with age: Observations from 160,000 patients / W.S. Harris, J.V. Pottala, S. A. Varvel, J. J. Borowski, J. N. Ward, J. P. McConnell // Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. – 2013. – Vol. 88. - № 4. – P. 257-263.
16. Santa-María C. Update on Anti-Inflammatory Molecular Mechanisms Induced by Oleic Acid / C. Santa-María, S. López-Enríquez, S. Montserrat-de la Paz, I. Geniz, M. E. Reyes-Quiroz, M. Moreno, F. Palomares, F. Sobrino, G. Alba // Nutrients. – 2023. – Vol. 15. – № 1. – P. 224.
17. Banerjee A. Oleic acid prevents erythrocyte death by preserving haemoglobin and erythrocyte membrane proteins / A. Banerjee, T. Dey, R. Majumder, T. Bhattacharya, S. Dey, D. Bandyopadhyay, A. Chattopadhyay // Free Radic BiolMed. – 2023. – Vol. 202. – P. 17-33.
18. Banerjee A. Insights into the ameliorative effect of oleic acid in rejuvenating phenylhydrazine induced oxidative stress mediated morpho-functionally dismantled erythrocytes / A. Banerjee, T. Dey, A. K. Ghosh, S. Mishra, D. Bandyopadhyay, A. Chattopadhyay // Toxicology Reports. – 2020. – Vol. 7. – P. 1551-1563.
19. Артюхов В. Г. Практикум по биофизике / В.Г. Артюхов, О.В. Башарина, Г.А. Вашанов, Е.А. Калаева, И.А. Лавриненко, М.А. Наквасина, О.В. Путинцева, М.С. Радченко, С.Г. Резван – Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016. – 313с.
20. Бондарь О. В. Мониторинг дзета-потенциала клеток человека при снижении их жизнеспособности и взаимодействии с полимерами / О. В. Бондарь, Д. В. Сайфуллина, И. И. Мавлютова, Т. И. Абдуллин // Acta naturae. – 2012. – Т. 4. – № 1(12). – С. 80-83.
21. Иванова И. П. Хемилюминесценция, индуцированная реакцией Фентона, — математическое моделирование процесса; особенности, параметры и условия применения для биомедицинских исследований / И. П. Иванова, С. В. Трофимова, И. М. Пискарев // Оригинальные исследования. 2014. — Т. 6. — № 4. — С. 14-25.
22. Бузлама В. С. Методическое пособие по изучению процессов пероксидного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма у животных / В.С. Бузлама. — Воронеж : РАСХН, 1997 — 35 с.
23. Антипова Л. В. Эмульсии в технологии производства пищевых продуктов / Л.В. Антипова // Успехи современного естествознания. — 2012. — № 6. — С. 129.

Воронежский государственный университет
Артюхов Валерий Григорьевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии
E-mail: artyukhov@bio.vsu.ru

Хамдамова Марина Хусанбаевна, магистрант кафедры биофизики и биотехнологии

Воронежский государственный медицинский университет Н.Н. Бурденко МЗ РФ
**Баева Елена Сергеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры нормальной физиологии*
E-mail: galaxy1985@mail.ru

Voronezh State University
Artyukhov Valery G., PhD., DSci., Full Professor, Head of the Department of Biophysics and Biotechnology
E-mail: artyukhov@bio.vsu.ru

Khamdamova Marina K., post-graduate student, Department of Biophysics and Biotechnology

Voronezh N.N. Burdenko State Medical University, Voronezh
**Bayeva Yelena S., PhD., associate professor at the Department of Normal Physiology*
E-mail: galaxy1985@mail.ru

ON THE ISSUE OF REGISTRATION THE ZETA POTENTIAL OF HUMAN ERYTHROCYTE CELLS IN THE PRESENCE OF OLEIC AND PALMITIC FATTY ACIDS

V.G. Artyukhov¹, Ye.S. Bayeva², M.H. Khamdamova¹

¹*Voronezh State University*

²*Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko*

Abstract. The zeta potential (ζ -potential) is a unique system formed at the boundary of two phases, one of which is a liquid. With regard to biological membranes, in particular, red blood cells, the formation of the ζ potential is predetermined by the negative value of the surface potential due to sialoglycoproteins, on the other hand – by the ionic microenvironment of plasma. Based on the literature in the field there's a large number of factors that determine the size of the Stern layer – the structural integrity of the membrane, the work of the antioxidant systems of the cell, the presence of penetrating ions, and others. This article deals with the results of a study of the zeta potential of human red blood cells under conditions of loading with fatty acids – oleic and palmitic at doses of 1.53×10^{-5} , 1.53×10^{-4} mol/l and 1.74×10^{-5} , 1.74×10^{-4} mol/l, respectively. Palmitic fatty acid has been found to promote the activation of free radical processes in erythrocytes and is highly active against red blood cells. By methods of recording biochemiluminescence and dynamic light scattering, it was shown that palmitic acid, depending on the dose used and the incubation time with red blood cells, causes a change in their surface potential (by 5 times during incubation for 3 hours), which only increases over time. The parameters of erythrocyte chemiluminescence in the presence of oleic acid – the light sum of the maximum flash (S) and the intensity of the maximum flash (Imax) – tend to increase relative to the control during incubation of the studied samples over time. The data obtained indicate the initiation of free radical processes, since the recorded indicators indicate a glow followed by attenuation. In living systems, a change in the ratio of fatty acids in cells (membranes) can lead to a violation of their metabolism, as well as affect the rheological properties of the liquid and biomembrane fluidity.

Keywords: zeta potential, erythrocytes, oxyhemoglobin, oleic acid, palmitic acid, biochemiluminescence

REFERENCES

1. Purnell M. C. Bio-field array: a dielectrophoretic electromagnetic toroidal excitation to restore and maintain the golden ratio in human erythrocytes / M. C. Purnell, M.B.A. Butawan, R.D. Ramsey // *Physiological Reports*. – 2018. – № 6(11). – P. e13722.
2. Chevalier G. Earthing (Grounding) the Human Body Reduces Blood Viscosity — a Major Factor in Cardiovascular Disease / G. Chevalier, S. T. Sinatra, J. L. Oschman, R. M. Delany // *The Journal of alternative and complementary medicine*. – 2013. – Vol. 19. – № 2. – P. 102–110.
3. Hoque M. Oleic acid may be the key contributor in the BAMLET-induced erythrocyte hemolysis and tumoricidal action / M. Hoque, S. Dave, P. Gupta, M. Saleemuddin // *PLoSOne*. – 2013. – Vol. 8. – № 9. – P. e68390.
4. Pandey M. Erythrocyte membrane stearic to oleic acid ratio in carcinoma of the gall bladder : a preliminary study / M. Pandey, A. K. Khatri, S.S. Dubey, A. Gautam, V. K. Shukla // *European Journal of Surgical Oncology*. – 1998. – Vol. 24. – № 1. – P. 43–46.
5. Wood C. B. Increase of oleic acid in erythrocytes associated with malignancies / C. B. Wood, N. A. Habib, A. Thompson, H. Bradpiece, C. Smadja, M. Hershman, W. Barker, K. Apostolov // *British Medical Journal (Clin Res Ed)*. – 1985. – Vol. 291. – № 6489. – P. 163–165.
6. Chen G. Regulation of blood viscosity in disease prevention and treatment / G. Chen, L. Zha, Y. W. Liu, F. L. Liao, D. Han, H. Zhou // *Chinese Science Bulletin*. – 2012. Vol. 57. – № 16. – P. 1946–1952.
7. Silva D. C. Optical tweezers as a new biomedical tool to measure zeta potential of stored red blood cells / D. C. Silva, C. N. Jovino, C. A. Silva, H. P. Fernandes, M. M. Filho, S. C. Lucena, A. M. Costa, C. L. Cesar, M. L. Barjas-Castro, B. S. Santos, A. Fontes // *PLoSOne*. – 2012. – Vol. 7. – № 2. – P. e31778.
8. Lang P. A. Role of Ca^{2+} -activated K^{+} channels in human erythrocyte apoptosis / P. A. Lang,

S. Kaiser, S. Myssina, T. Wieder, F. Lang, S. M. Huber // *American Journal of Physiology-cell Physiology*. – 2003. – Vol. 285. – № 6. – P. C1553–C1560.

9. Skals M. Escherichia coli α hemolysin triggers shrinkage of erythrocytes via KCa3.1 and TMEM16A channels with subsequent phosphatidylserine exposure / M. Skals, U. B. Jensen, J. Ousingsawat, K. Kunzelmann, J. Leipziger, H. A. Praetorius // *Journal of Biological Chemistry*. – 2010. – Vol. 285. – № 20. – P. 15557–15565.

10. Pellegrino M. Modulation of Ca²⁺-activated K⁺ channels of human erythrocytes by endogenous cAMP-dependent protein kinase / M. Pellegrino, M. Pellegrini // *European Journal of Physiology*. – 1998. – Vol. 436. – № 5. – P. 749–756.

11. Gerlach A. C. Kinasedependent regulation of the intermediate conductance, calciumdependent potassium channel, hK1 / A. C. Gerlach, N. N. Gangopadhyay, D. C. Devor // *Journal of Biological Chemistry*. – 2000. – Vol. 275, № 1. – P. 585–598.

12. Nguyen D. B. Characterization of Microvesicles Released from Human Red Blood Cells / D. B. Nguyen, T. B. Ly, M. C. Wesseling, M. Hittinger, A. Torge, A. Devitt, Y. Perrie, I. Bernhardt // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2016. – Vol. 38. – № 3. – P. 1085–1099.

13. Gavva E.M. Omega-3-indeks eritrotsitov kak pokazatel', otrazhayushchii sodержание polinenasyshchennykh zhirnykh kislot v miokarde bol'nykh ishemicheskoi boleznyu serdtsa / E. M. Gavva, D.A. Tsaregorodtsev, I.S. Mamedov, A.V. Stonogin // *Kardiologiya i serdechno-sosudistaya khirurgiya*. – 2012 — T.1. — №5 — S. 18–22.

14. Zherebtsov N.A. Biokhimiya / N. A. Zherebtsov. T. N. Popova, V. G. Artyukhov – Voronezh: Izd-vo VGU, 2002. – 696 s.

15. Harris W.S. Erythrocyte omega-3 fatty acids increase and linoleic acid decreases with age: Observations from 160,000 patients / W.S. Harris, J.V. Pottala, S. A. Varvel, J. J. Borowski, J. N. Ward, J. P. McConnell // *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. – 2013. – Vol. 88. – № 4. – P. 257–263.

16. Santa-María C. Update on Anti-Inflammatory Molecular Mechanisms Induced by Oleic Acid / C. Santa-María, S. López-Enríquez, S. Montserrat-de la Paz, I. Geniz, M. E. Reyes-Quiroz, M. Moreno, F. Palomares, F. Sobrino, G. Alba // *Nutrients*. – 2023. – Vol. 15. – № 1. – P. 224.

17. Banerjee A. Oleic acid prevents erythrocyte death by preserving haemoglobin and erythrocyte membrane proteins / A. Banerjee, T. Dey, R. Majumder, T. Bhattacharya, S. Dey, D. Bandyopadhyay, A. Chattopadhyay // *Free Radic BiolMed*. – 2023. – Vol. 202. – P. 17–33.

18. Banerjee A. Insights into the ameliorative effect of oleic acid in rejuvenating phenylhydrazine induced oxidative stress mediated morpho-functionally dismantled erythrocytes / A. Banerjee, T. Dey, A. K. Ghosh, S. Mishra, D. Bandyopadhyay, A. Chattopadhyay // *Toxicology Reports*. – 2020. – Vol. 7. – P. 1551–1563.

19. Artyukhov V. G. Praktikum po biofizike / V.G. Artyukhov, O.V. Basharina, G.A. Vashanov, E.A. Kalaeva, I.A. Lavrinenko, M.A. Nakvasina, O.V. Putintseva, M.S. Radchenko, S.G. Rezvan – Voronezh: Izdatel'skii dom VGU, 2016. – 313s.

20. Bondar' O. V. Monitoring dzeta-potentsiala kletok cheloveka pri snizhenii ikh zhiznesposobnosti i vzaimodeistvii s polimerami / O. V. Bondar', D. V. Saifullina, I. I. Mavlyutova, T. I. Abdullin // *Acta naturae*. – 2012. – T. 4. – № 1(12). – C. 80–83.

21. Ivanova I. P. Khemilyuminestsentsiya, indut-sirovannaya reaktsiei Fentona, — matematicheskoe modelirovanie protsessa; osobennosti, parametry i usloviya primeneniya dlya biomeditsinskikh issledovaniy / I. P. Ivanova, S. V. Trofimova, I. M. Piskarev // *Original'nye issledovaniya*. 2014. — T. 6. — № 4. — S. 14–25.

22. Buzlama V. S. Metodicheskoe posobie po izucheniyu protsessov peroksidnogo okisleniya lipidov i sistemy antioksidantnoi zashchity organizma u zhivotnykh / V.S. Buzlama. — Voronezh : RASKhN, 1997 — 35 s.

23. Antipova L. V. Emul'sii v tekhnologii proizvodstva pishchevykh produktov / L.V. Antipova // *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. — 2012. — № 6. — C. 129.