

amount of carboxyl and phenolic groups according to titrimetric analysis, the concentration of PMC according to EPR data and the color coefficient ($Q_{4/6}$) according to electron spectroscopy was established.

Conclusion. Thus, based on the correlation analysis, we can conclude that the key structural fragments responsible for the manifestation of HA AOA are phenolic groups and paramagnetic centers. The obtained results can be used as a screening tool for predicting the AOA of HAs.

The work was financially supported by the Ministry of Health of the Russian Federation (State assignment No. 056-00071-22-02).

БИОДОСТУПНОСТЬ ЖЕЛЕЗА НОВЫХ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ *IN VITRO*

Е.Е. Буйко^{1*}, А.М. Жиркова², В.В. Иванов¹, А.А. Уфандеев¹, Е.А. Перица¹,
К.А. Братишко¹, М.В. Зыкова¹, М.В. Белоусов¹, И.В. Перминова²

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России, г. Томск, Россия

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия
e-mail: buykoevgen@yandex.ru

Ключевые слова: железодефицитная анемия, гуминовые вещества, Caco2, феррозиновый тест.

Введение. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, железодефицитная анемия (ЖДА) является наиболее распространенным видом анемий, которым страдает до 30% мирового населения (около 2,5 миллиардов человек) [1]. Терапия пациентов с ЖДА направлена на пополнение запасов железа в организме и повышение уровня гемоглобина до нормальных значений [2]. Пероральные препараты железа используются в качестве терапии первой линии, и разработка новых железосодержащих субстанций для эффективного лечения ЖДА сохраняет актуальность. С использованием отдельных фракций гуминовых веществ (ГВ) были синтезированы образцы новых комплексов железа(III), которые могут лечь в основу разработки нового типа железосодержащих препаратов с улучшенным профилем биодоступности железа и безопасности.

Цель. Оценить биодоступность железа синтезированных железосодержащих препаратов на основе ГВ с использованием *in vitro* тестирования на культуре клеток Caco2.

Материалы и методы. Клетки линии Caco2 рассаживали в количестве 100 тыс. клеток/лунку 12-луночного культурального планшета в 1 мл полной питательной среды (ППС) DMEM/F-12 (Gibco, США) и оставляли на ночь для адгезии. На следующий день к клеткам вносили образец железосодержащего комплекса фульвокислот (FAFe2), образец железосодержащего комплекса гуминовых кислот (CHP-Fe2) или препарат сравнения Феррум лек (Ferrum-Lek, Железа III гидроксид полимальтозат, Лек д.д., Словения) до конечной концентрации 50 мкг/мл по железу(III). После инкубации в течение 24 ч к клеткам добавляли концентрированную соляную кислоту и инкубировали в течение 1 ч (60 °C) и 12 ч при комнатной температуре, затем – проводили количественное определение содержания железа в клетках феррозиновым методом, как описано [3] с незначительными модификациями. Расчет проводился по калибровочной кривой, построенной для эталона FeCl₃·6H₂O (Sigma Aldrich, США). Для количественного выражения концентраций железа в клетках измеряли количество белка в пробах клеточных лизатов ВСА-методом как описано [4]. Экспериментальные данные обрабатывали с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Все результаты представлены в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Проверку на нормальность распределения значений осуществляли с использованием критерия Шапиро-Уилка. Анализ статистической значимости различий между выборками выполняли при помощи t-критерия Стьюдента, статистически значимым считали результат при $p < 0,05$.

Результаты. Высвобождение железа из исследуемых образцов и препарата сравнения Ferrum-Lek и его накопление в клетках линии Caco2 оценивалось с использованием феррозина, который признается эффективным хелатором железа и применяется для определения железа в биологических образцах [3]. Результаты проведенных экспериментов представлены на Рисунке 1.

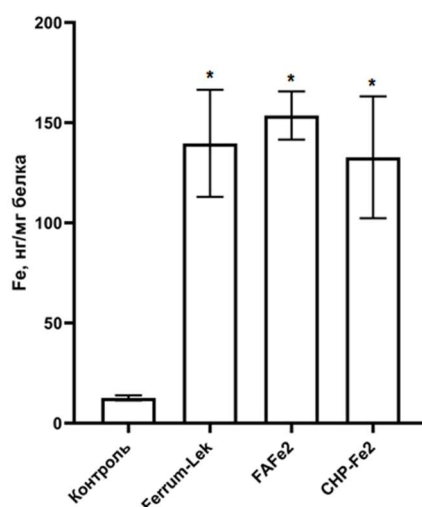


Рисунок 1. Содержание железа в клетках линии Caco2 после инкубации с исследуемыми образцами железосодержащего комплекса фульвокислот (FAFe2), железосодержащего комплекса гуминовых кислот (CHP-Fe2) или препаратом сравнения Феррум лек (Ferrum-Lek) в конечной концентрации 50 мкг/мл в течение 24 ч, М±SD. * - статистически значимые различия по сравнению с контролем.

После инкубации контрольных клеток (без внесения образцов или препарата сравнения Феррум лек) уровень железа составил $12,63 \pm 2,25$ нг/мг белка. Внесение в инкубационную среду препарата сравнения в конечной концентрации 50 мкг/мл (по железу в составе препарата) приводило к увеличению концентрации железа в клетках более чем в 10 раз (до $139,70 \pm 46,23$ нг/мг белка, $p < 0.05$). Инкубация клеток линии Caco2 в течение 24 часов с образцами FaFe2 и CHP-Fe2 в концентрации 50 мкг/мл железа привела к сравнимому увеличению уровня железа в клеточном лизате до $153,59 \pm 20,81$ нг/мг белка ($p < 0.05$) и $132,73 \pm 52,65$ нг/мг белка ($p < 0.05$), соответственно.

Заключение. В результате проведенных экспериментов установлено, что железо, высвобождающееся из синтезированных железосодержащих препаратов на основе ГВ, обладает высокой биодоступностью в отношении клеток линии Caco2, сопоставимой с таковой у препарата сравнения Феррум лек.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства Здравоохранения РФ (Государственное задание № 056-00071-22-02).

Литература.

1. Kumar A., Sharma E., Marley A., Samaan M. A., Brookes M. J. Iron deficiency anaemia: pathophysiology, assessment, practical management. *BMJ open gastroenterology*. 2022;9(1):e000759. DOI: 10.1136/bmjgast-2021-000759.
2. Camaschella C. Iron deficiency. *Blood. The Journal of the American Society of Hematology*. 2019;133(1):30-39. DOI: 10.1182/blood-2018-05-815944.
3. Riemer J., Hoepken H. H., Czerwinska H., Robinson S. R., Dringen R. Colorimetric ferrozine-based assay for the quantitation of iron in cultured cells. *Analytical biochemistry*. 2004;331(2):370-375. DOI: 10.1182/blood-2018-05-815944.
4. Olson, B. J. Assays for determination of protein concentration. *Current protocols in pharmacology*. 2016;73(1):A-3A. DOI: 10.1002/cpph.3.