

## ВПЛИВ МОДЕЛЬНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ НА МЕХАНІЧНУ СТІЙКІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ КРОЛИКА ТА ЩУРА

**Ніпот О.Є.**, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2877-8896>

**Єршова Н.А.**, кандидат біологічних наук, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9332-6752>

**Єршов С.С.**, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6136-1825>

**Чабаненко О.О.**, доктор філософії за спеціальністю «біологія», Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1977-3495>

**Шпакова Н.М.**, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0148-7522>

Експериментальна індукція гіперглікемії на тваринних моделях має важливе значення для розвитку знань і розуміння різних аспектів патогенезу цукрового діабету і, в кінцевому підсумку, пошуку нових методів терапії та лікування. Через свою малопомітну та хронічну природу гіперглікемія відіграє ключову роль у розвитку діабетичних ускладнень. У біомедичних дослідженнях використовуються моделі діабету як *in vivo*, так і *in vitro*. Більшість доступних моделей засновані на гризунах через їх невеликий розмір, короткий інтервал між поколіннями, легку доступність та економічні міркування [4]. Дослідження впливу підвищеної концентрації глюкози на еритроцити тварин також можуть бути корисними у ветеринарній медицині. Хоча цукровий діабет, наприклад, у кроликів зустрічається нечасто, гіперглікемія досить поширена. У клінічній практиці більшість випадків гіперглікемії спричинені стресом (транспортування, маніпуляції, основне захворювання), порушенням харчування, кишковою непрохідністю [1].

Метою роботи було дослідити можливу зміну чутливості еритроцитів кролика та щура до механічного стресу після інкубації нормальних еритроцитів у розчині з підвищеним вмістом глюкози.

Для дослідження використовували еритроцити, отримані з крові кролика і щура. Забір крові у тварин здійснювали з використанням розчину гепарину (500 од/мл). Після видалення плазми еритромасу двічі відмивали шляхом центрифугування при 1000 g протягом 3 хвилин у 10-кратному об'ємі фізіологічного розчину (NaCl 0,15 моль/л; Na-фосфатний буфер 0,01 моль/л, рН 7,4). Заготівлю крові тварин і всі маніпуляції проводили відповідно до вітчизняних та міжнародними біоетичними нормами. Моделювання гіперглікемії проводили за методикою Riquelme et al [3]. Аліквоту еритроцитів (гематокрит 20%) поміщали у фізіологічний розчин, що містить глюкозу в концентрації 5%, та інкубували за 37°C 120 хв. Середовище видаляли шляхом м'якого осадження. Механічний стрес проводили за методикою Шпакова та ін. [6]. Клітинну суспензію (гематокрит 20%) перемішували в ємності, заповненій пластиковими кульками, за кімнатної температури (22 °C) за допомогою магнітної мішалки. Час механічного впливу на еритроцити 0, 10, 30, 45, 60 хв. Рівень гемолізу еритроцитів визначали спектрофотометрично за довжини хвилі 543 нм. Для визначення виходу іонів калію з еритроцитів використовували іонометричний метод. Статистичну обробку отриманих числових даних проводили за допомогою програми "Statistica" (версія 6.0).

Рівень гемолітичного пошкодження еритроцитів кролика в умовах механічного стресу складав: контрольні клітини – 0%, 3±1%, 12±3%, 18±6%, 22±6%; клітини після впливу гіперглікемії – 0%, 7±2%, 16±4%, 23±4%, 30±5% для 0, 10, 30, 45, 60 хв відповідно. Рівень втрати катіонів калію еритроцитів кролика в умовах механічного стресу складав: контрольні клітини – 0%, 8±2%, 12±1%, 15±3%, 18±4%; клітини після впливу гіперглікемії – 5±2%, 11±3%, 13±3%, 19±5%, 23±6% для 0, 10, 30, 45, 60 хв відповідно. Отримані дані свідчать про відсутність впливу гіперглікемії на рівень гемолізу та втрати катіонів калію еритроцитів кролика після механічного стресу. При цьому відсоткові значення гемолітичного пошкодження і виходу катіонів калію співпадають, що вказує на те, що проникність для іонів калію не порушується під час механічного впливу як для контрольних клітин, так і для клітин, що знаходилися в умовах гіперглікемії.

Для еритроцитів щура отримані наступні показники. Рівень гемолітичного пошкодження еритроцитів щура в умовах механічного стресу складав: контрольні клітини – 0%, 7±2%, 21±4%, 28±4%, 32±5 %; клітини після впливу гіперглікемії – 0%, 12±2%, 32±3%, 41±4%, 50±6 % для 0, 10, 30, 45, 60 хв відповідно. Рівень втрати катіонів калію еритроцитів щура в умовах механічного стресу складав: контрольні клітини – 0%, 21±2%, 33±1%, 41±3%, 45±4%; клітини після впливу гіперглікемії – 2±1%, 23±3%, 34±3%, 40±5%, 44±6% для 0, 10, 30, 45, 60 хв відповідно. З наведених даних видно, що для усіх часових інтервалів механічного впливу спостерігається більш високий рівень пошкодження для еритроцитів, що були піддані впливу гіперглікемії. Що стосується втрати іонів калію, рівні для контрольних та оброблених клітин співпадають. При цьому, слід відмітити, що втрата калію у відсотках для контрольних клітин вище рівня гемолізу, а підданих впливу гіперглікемії – співпадає.

Вважається, що головним пошкоджуючим фактором підвищеної концентрації глюкози є глікування білків цитоскелету та мембрани еритроцитів. Глікування може спричиняти низку змін у механічних властивостях клітин. Для еритроцитів людини показано, що в'язкопружні параметри еритроцитів, як стаціонарні, так і динамічні, демонструють значні зміни при збільшенні концентрації глюкози в суспензійному середовищі [3]. Дійсно, на моделі, яка використана в поточній роботі, показана значна зміна чутливості еритроцитів людини до механічного впливу [5]. Але для клітин кролика ми не спостерігаємо змін у чутливості еритроцитів до механічного шоку, а клітини щура мають певні видові особливості. Це може бути зумовлено особливостями руху глюкози через клітинні мембрани ссавців, а отже і ступенем глікування мембранних білків. А саме, відомо, що для клітин кролика швидкість транспорту глюкози є набагато меншою [2].

Таким чином, при аналізі отриманих даних та літературних джерел щодо стійкості еритроцитів людини та тварин до механічного впливу в умовах модельної гіперглікемії, можна виявити значні розбіжності у реакції клітин на стрес. Це означає, що застосування тваринних моделей у біомедичних дослідженнях вимагає обережності та врахування особливостей фізіології тварин.

Бібліографічний список:

1. Melillo A. (2007). *Journal of Exotic Pet Medicine*, 16 (3), 135-145. doi:10.1053/j.jepm.2007.06.002
2. Rendell M. at al (1985). *Comp. Biochem. Physiol.* 81B (4), 819-822. doi: 10.1016/0305-0491(85)90072-0
3. Riquelme B. at al (2005). *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 62 (2), 131-141. doi: 10.1016/j.jbbm.2004.10.004.
4. Singh M. P. at al (2015). *European Journal of Experimental Biology*, 5(5), 37-48
5. Ніпот О.С. та ін. (2023). *Матеріали III міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*. Харків. 289-290.
6. Шпакова Н.М. та ін. (2010) *Спосіб деструкції еритроцитів* (Патент України № 52701). <http://uapatents.com/2-52701-sposib-destrukci-eritrocitiv.html>