

- клінічно і патогенетично обґрунтований висновок на основі даних, отриманих у процесі досліджень.

УДК 546.343:57.042:612.111

ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПЕРТОНІЧНОГО СТРЕСУ ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ ТА КРОЛИКА В УМОВАХ ПОПЕРЕДНЬОГО ВИСНАЖЕННЯ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОЇ АТФ ЧИ НАСИЧЕННЯ КЛІТИН ГЛЮКОЗОЮ

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, 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>

Лаптії О.П., кандидат ветеринарних наук, КП Центр поводження з тваринами, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0992-3018>

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>

Метаболічний стрес, спричинений нестачею глюкози, суттєво впливає на стан еритроцитів, де гліколіз є основним шляхом продукції АТФ. Гіпоглікемія може бути як фізіологічною, що виникає під час голодування, важких фізичних навантажень та стресу, так і патологічною, що супроводжує низку захворювань. Нестача АТФ негативно впливає на механічні характеристики мембрани, стан переносників іонів, тощо [1]. Протилежним станом є гіперглікемія, коли дефекти метаболізму призводять до надлишку глюкози у кровоносному руслі і, як наслідок, в еритроцитах. За наявності гіперглікемії, що зберігається тривалий час, морфологія, метаболізм і функція еритроцитів неминуче зазнають низки змін, які надалі впливають на гемореологію і мікроциркуляцію [2].

Метою цього дослідження було порівняти зміни у реакції еритроцитів людини та кролика на стресовий вплив (гіпертонічний стрес) за умов виснаження внутрішньоклітинної АТФ та при насиченні клітин глюкозою.

Для дослідження використовували еритроцити, отримані з крові кролика. Забір крові у кролика здійснювали з використанням розчину гепарину (500 од/мл). Після видалення плазми еритромасу двічі відмивали шляхом центрифугування. Заготівлю крові кролика і всі маніпуляції проводили відповідно до вітчизняних та міжнародних біоетичних норм. Моделювання гіперглікемії проводили за методикою Riquelme et al [3]. Аліквоту еритроцитів поміщали у фізіологічний розчин, що містив глюкозу в концентрації 5%, та інкубували за 37°C 120 хв. Середовище видаляли шляхом м'якого осадження. Виснаження клітин за АТФ проводили за методом Marjanovic et al [4]. Еритроцити інкубували з 2-дезоксид-Д-глюкозою (10 мМ) протягом 2 год при 37°C, після чого відмивали фізіологічним розчином. Гіпертонічний шок еритроцитів ссавців здійснювали перенесенням клітин у розчин, що містить 4,0 М NaCl, 0,01 М фосфатний буфер, рН 7,4 за 22°C на 5 хв (гематокрит 0,4%). Вміст гемоглобіну, що вийшов у супернатант, визначали спектрофотометрично. Статистичну обробку отриманих числових даних проводили за допомогою програми "Statistica" (версія

6.0).

Отримані дані показали значне зростання чутливості еритроцитів кролика до гіпертонічного впливу після метаболічного виснаження клітин. Так, рівень гіпертонічного гемолізу контрольних клітин складав $10 \pm 2\%$, виснажених клітин – $24 \pm 5\%$. Насичення клітин глюкозою не призводило до зміни чутливості еритроцитів кролика до гіпертонічного шоку: рівень гемолітичного пошкодження контрольних клітин складав $16 \pm 3\%$, клітин, які насичували глюкозою у концентрації $0,6\%$ – $14 \pm 4\%$; 5% – $18 \pm 3\%$. Еритроцити людини демонстрували зовсім іншу реакцію на відсутність АТФ чи надлишок глюкози. Так, виснажені клітини ставали більш стійкішими до гіпертонічної дії: рівень гемолізу контрольних клітин складав $78 \pm 8\%$, виснажених – $62 \pm 7\%$. При насиченні глюкозою були отримані наступні показники: контрольні клітини – $71 \pm 7\%$, $0,6\%$ глюкози – $75 \pm 6\%$, 5% – $86 \pm 7\%$.

Як показано у роботі [5], вплив гіпертонічних розчинів на еритроцити навіть при триразовому перевищенні фізіологічного значення осмолярності веде до порушення вторинної конформації мембранних білків та гемоглобіну. Тому цитоскелет клітини можна вважати основною мішенню цього стресового впливу.

Зменшення концентрації АТФ у клітині при її метаболічному виснаженні веде до інгібування фосфорилування білків цитоскелету, зокрема білка 4.1R, який з'єднує спектрин із мембраною. Виснаження пулу АТФ змушує білок 4.1R перебувати в нефосфорильованому стані, що сприяє зв'язуванню комплексу 4.1R/спектрин/актин в клітинах збіднених АТФ. Зміна чутливості до стресового впливу, що виявлена для клітин кролика та людини має протилежну направленість. Це може означати що базовий білковий комплекс, який підтримує цитоскелет еритроцитів цих ссавців, має різну організацію. Опосередкованим підтвердженням цього припущення є відмінності у білковому складі мембрани. Так еритроцити кролика містять меншу кількість спектрину та анкірину та більшу кількість білка 4.1R [6].

Насичення клітин глюкозою має менший вплив на їх стресостійкість. Глюкоза у концентрації $0,5\%$ не змінює рівень гіпертонічного гемолізу обох досліджуваних ссавців. Більш висока концентрація глюкози підвищує чутливість еритроцитів до гіпертонічного шоку, але тільки для клітин людини. Це може бути пояснено різною швидкістю метаболічних процесів у клітинах кролика та людини [7], а відтак різним станом клітин після насичення їх глюкозою.

Отже, метаболічний стан еритроцитів має значний вплив на їх стійкість до стресових чинників, а саме гіпертонічного шоку. Крім цього, стресостійкість клітин і їх реакція на дефіцит АТФ та надлишок глюкози є видоспецифічними.

Бібліографічний список:

1. Betz T., Lenz M., Joanny J.-F., Sykes C. (2009) ATP-dependent mechanics of red blood cells. *PNAS*, 106(36), 15320-15325. doi.org/10.1073/pnas.0904614106.
2. Viskupicova J., Blaskovic D., Galiniak S., Soszyński M., Bartosz G., Horakova L., Sadowska-Bartosz I. (2015) Effect of high glucose concentrations on human erythrocytes in vitro. *Redox. Biol.*, 5, 381-387. doi: 10.1016/j.redox.2015.06.011.
3. Riquelme B., Foresto P., D'Arrigo M., Valverde J., Rasia R. (2005) A dynamic and stationary rheological study of erythrocytes incubated in a glucose medium. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 62 (2), 131-141. doi: 10.1016/j.jbbm.2004.10.004.
4. Marjanovic M., Willis J.S. (1992). ATP dependence of $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump of cold sensitive and cold tolerant mammalian red blood cells. *J. Physiol.*, 456(1), 575–590. doi: 10.1113/jphysiol.1992.sp019354
5. Lukose, J., Shastry, S., Nelliath, M., Mohan, G., Ahmed, A., & Santhosh, C. (2020). Red blood cells under varying extracellular tonicity conditions: an optical tweezers combined with micro-Raman study. *Biomedical Physics & Engineering Express*. doi:10.1088/2057-1976/ab6e1a
6. Matei H. Frentescu L., Benga Gh. (2000). Comparative studies of the protein composition of

red blood cell membranes from eight mammalian species. *J. Cell. Mol. Med.*, 4(4), 270–276. doi.org/10.1111/j.1582-4934.2000.tb00126.x

7. Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L. (2008) Clinical biochemistry of domestic animals. The erythrocyte: physiology, metabolism, and biochemical disorders (6th ed). *Elsevier Inc. Academic Press*,. doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.X0001-3.

УДК 349.22

ПРОБЛЕМИ ПРАВОВОГО РЕГУЛЮВАННЯ РЕАЛІЗАЦІЇ ТРУДОВИХ ПРАВ ДИСТАНЦІЙНИМИ ПРАЦІВНИКАМИ

Павліченко О.В., кандидат ветеринарних наук, доктор юридичних наук, доцент, Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6577-6577>

Парилівський О.І., асистент, Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5282-4755>

Проблема реалізації трудових прав працівників стала актуальною в Україні з коронавірусної хвороби COVID-19, а також необхідністю організації трудових правовідносин в умовах триваючої війни.

Вказане безпосереднім чином обумовлюється: 1) зміною фактичних умов виконання працівниками своїх трудових прав і обов'язків в умовах імовірних локдаунів, руйнуванням критичної інфраструктури, ракетних обстрілів населених пунктів, їх тимчасової окупації тощо; 2) загостренням економічних проблем, за яких роботодавці вимушені вивільняти працівників, унеможливаючи подальшу реалізацію ними трудових прав; 3) узвичаєнням атипових форм зайнятості, котрі вже під час дії карантинних заходів, запроваджених з метою мінімізації поширення в Україні COVID-19, стали оптимальним заходом, який забезпечує подальший перебіг трудових відносин, залишаючись також умовою, за якої у практичній дійсності досить часто спотворюються можливості працівника реалізувати свої трудові права на тому ж рівні, що і працівники, котрі працюють в умовах типової зайнятості.

Динамічне поширення дистанційної зайнятості, в межах якої відповідний нетиповий працівник самостійно організовуючи власний режим роботи, реалізовує трудові права та обов'язки поза межами приміщень (поза типовим робочим місцем), взаємодіючи з роботодавцем віддалено з використанням сучасних інформаційних і комунікаційних технологій, що сукупно не перешкоджає реалізації працівником його трудових обов'язків. При цьому зміст та особливості дистанційної роботи позначаються на правовому статусі дистанційних працівників, а також на комплексі та межах їх правомочностей щодо реалізації ними трудових прав, які їм належать відповідно до загальних норм діючого законодавства про працю.

У результаті тривалої неврегульованості законодавством України про працю дистанційної зайнятості, ця категорія нетипових працівників достатньо довго була фактично позбавлена багатьох трудових прав, закріплених у загальних нормах трудового законодавства.

На сьогоднішній день особливим чином ситуація не змінилась, хоча законодавство про працю в останні роки (починаючи з 2021 року) зазнало суттєвих змін у частині нормативно-правового забезпечення праці дистанційних працівників.

І наразі дистанційні працівники залишаються не завжди спроможними в практичній дійсності реалізувати ключові трудові права (право на асоціацію, право на відпочинок, право на недоторканність особистого життя тощо). Зокрема той факт, що дистанційний працівник самостійно встановлює режим робочого часу, прямо відображається на характері реалізації ним права на відпочинок, адже межі тривалості та особливості відпочинку ця категорія працівників встановлює на власний розсуд, зважаючи на обсяг роботи, яку вони повинні виконати в обумовлений термін.