

І.В. Ференц, І.В. Бродяк, М.Я. Люта, О.Р. Кулачковський, Н.О. Сибірна

Вплив продукту декарбокซิлювання L-аргініну на морфофункціональні показники еритронару за умов експериментального цукрового діабету у щурів

У статті наведено результати дослідження впливу продукту декарбокซิлювання L-аргініну (агматину) на стійкість еритроцитів до кислотного гемолітика, кількість і добову продукцію ретикулоцитів і поверхневу архітектуру еритроцитів за умов стрептозотоцинового цукрового діабету у щурів. Показано, що введення агматину тваринам з діабетом призводить до зниження інтенсивності еритропоезу та зростання резистентності еритроцитів до соляної кислоти. Встановлено зростання частки молодих еритроцитів на 10 % і зменшення кількості перехідних форм клітин, які за фізіологічних умов здатні до трансформації у дискоцити, на 35 %. Отримані результати свідчать про покращення морфофункціональних характеристик еритроцитів при діабеті і відображають позитивний вплив агматину на клітини еритронару за рахунок цукрознижувальної дії цього поліаміну. Ключові слова: еритроцити, агматин, експериментальний цукровий діабет.

ВСТУП

Стан хронічної гіперглікемії при захворюванні на цукровий діабет (ЦД) супроводжується різноманітними порушеннями обміну речовин, що призводить до наростання патологічних процесів у клітинах і розвитку діабетичних ускладнень різної етіології. Особлива роль у каскаді цих патологічних змін відводиться порушенням реологічних властивостей крові [1]. Еритроцити становлять 90 % від кількості усіх формених елементів крові, а їхній сумарний об'єм у 50 разів перевищує об'єм лейкоцитів і тромбоцитів. Тому ці клітини є основними факторами, які впливають на в'язкість крові [2–4]. Зважаючи на це, порушення структури та функціональних властивостей еритроцитів є патогенетичною ланкою зміни реологічного статусу крові при ЦД, одного з факторів розвитку діабетичних мікроангіопатій [1, 5, 6].

Індуковані надлишком глюкози зміни в клітинах еритроїдного ряду проявляються в комплексі порушень на молекулярному та

клітинному рівнях: змінюється внутрішньо-оклітинний метаболізм еритроцитів, модифікуються компоненти клітинної мембрани та знижується їхня механічна й осмотична стійкість. За умов ЦД популяція еритроцитів периферичної крові характеризується збільшенням вмісту макроцитів, зростанням поліморфізму клітин, появою значної кількості деформованих і гемолізованих форм [1, 6, 7].

Механізмом реалізації негативного впливу гіперглікемії є посилення процесів неферментативного глікозилювання внутрішньо-клітинних і мембранних білків еритроцитів. Зростання частки модифікованого у такий спосіб гемоглобіну зумовлює підвищення спорідненості його молекули до кисню та утруднює віддачу останнього в периферичних тканинах. Це виявляється у погіршенні оксигенації ендотеліоцитів кровоносних судин, що є одним з факторів розвитку ендотеліальної дисфункції, та порушенні газотранспортної функції крові в цілому [8]. Неферментативне приєднання глюкози до мембранних білків (спектрину, білка смуги

3, білка смуги 4.1) призводить до їхньої незворотної структурно-функціональної модифікації. Разом із посиленням процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), неферментативне глікозилювання білкових компонентів еритроцитарної мембрани є причиною порушення стабільності форми та зниження механічної стійкості еритроцитів, посилення їхньої агрегації й адгезії до ендотелію [9, 10]. З іншого боку, надмірне накопичення глюкози в цитоплазмі еритроцитів індукує зміни у внутрішньоклітинному метаболізмі цих клітин. Пригнічення синтезу АТФ в умовах гіперглікемії супроводжується порушенням енергозалежних процесів – підтримання та відновлення дископодібної форми еритроцитів, транспорту катіонів, захисту клітинних компонентів від окиснення [1]. Окрім того, дефіцит АТФ поряд зі зростанням продукції активних форм кисню і активацією пентозофосфатного шунта призводить до зниження активності АТФ-залежних амінофосфоліпід-трансфераз. Такі метаболічні зміни є причиною порушення ліпідної асиметрії плазматичних мембран і екстерналізації фосфатидилсерину у зовнішній фосфоліпідний бішар клітин. Зростання вмісту фосфатидилсерину у зовнішньому бішарі плазматичної мембрани та посилення процесів десіалювання мембранних глікокон'югатів є ознаками старіння еритроцитів та сигналом для їхньої елімінації з кров'яного русла макрофагами селезінки, купферівськими клітинами печінки та макрофагами кісткового мозку [1, 11].

Метою нашої роботи було дослідження впливу агматину – продукту декарбоксілювання L-аргініну, який має гіпоглікемічну дію, на морфофункціональні показники еритроциту за умов експериментального ЦД у щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 150–180 г, яким забезпечували вільний доступ до їжі та води

і перебування у стандартних умовах віварію. Експерименти проводили згідно з національними “Загальними етичними принципами проведення експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), що узгоджуються з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985).

Тварини були поділені на 4 групи. До I контрольної групи ввійшли інтактні щури, до II – тварини, яким вводили агматин. Тваринам III і IV груп моделювали ЦД внутрішньоочередовим введенням стрептозотоцину (“Sigma”, США), розчиненого в 10 ммоль/л цитратному буфері (рН 5,5), з розрахунку 60 мг/кг. Розвиток діабету контролювали за вмістом глюкози в крові, яку визначали через 72 год після введення препарату. В експерименті використовували тварин із вмістом глюкози понад 14 ммоль/л. Щурам IV групи робили ін'єкцію агматину (“Sigma”, США) у концентрації 20 мг/кг, який вводили протягом 14 діб починаючи з 3-ї доби від моменту індукції діабету.

Забір крові для досліджень проводили з додаванням гепарину (кінцеве розведення гепарин : цільна кров = 1:100).

Стійкість еритроцитів до кислотного гемолітика визначали за методом Терскова і Гітельсона [12] і характеризували за такими показниками: тривалість гемолізу (хвилини), пік гемолізу еритроцитів (хвилини), максимальна кількість гемолізованих еритроцитів за 0,5 хв (відсотки). Криву часової залежності кількості гемолізованих еритроцитів розділяли на відрізки, на основі чого їх ділили на три групи стійкості: відрізок від 1,5 до 3 хв – еритроцити зі зниженою стійкістю (старі); від 3,5 до 4,5 хв відповідає середньостійким еритроцитам (середнього віку); відрізок від 5 хв характеризує еритроцити із підвищеною стійкістю (молоді). У периферичній крові підраховували кількість і добову продукцію ретикулоцитів [13].

Еритроцити для трансмісійного електронно-мікроскопічного дослідження після відмивання фіксували спочатку 2,5%-м розчином глутаральдегіду, потім 2%-м розчином OsO₄ у какодилатному буфері (рН 7,2) протягом 2 год при 4°C. Після повторної промивки цим буфером еритроцити зневоднювали у зростаючих концентраціях етилового спирту. Зразки наносили на алюмінієву пластинку, висушували, напильовали ультратонким шаром міді. Готові зразки вивчали в скануючому електронному мікроскопі (JEOL JSM-T 220A). У кожному препараті підраховували 1000 клітин і визначали кількісне співвідношення морфологічних форм еритроцитів, використовуючи класифікацію [14, 15].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою критерію t Стьюдента і представили їх у вигляді $M \pm m$. Статистично вірогідними вважали відмінності при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рис. 1 представлено типові еритрограми шурів у нормі, за умов ЦД та при введенні тваринам агматину. Метод кислотних еритрограм дає змогу оцінити гідрофобний бар'єр і проникність білкових компонентів мембрани, а також групувати морфологічно однорідні еритроцити на віковій популяції.

Молоді еритроцити характеризуються найвищою стійкістю до дії кислотного гемолітика і займають на еритрограмі праве положення. Старіння еритроцитів супроводжуються поступовим зниженням їхньої резистентності, що на еритрограмі позначається зміщенням кривої вліво. Міра стійкості еритроцитів до кислотного гемолізу є відображенням функціонально-метаболічного стану клітинної мембрани і зазнає змін не тільки в процесі старіння клітин, а й внаслідок фізико-хімічної модифікації та дестабілізації мембранних компонентів при багатьох патологічних станах [12].

Еритрограма контрольних тварин була одновершинною, що свідчить про відносну однорідність популяції та відповідає нормобластичному типу кровотворення (див. рис. 1). Пік її припадав на 3,5 хв, у цій точці кривої гемолізу зазнало 26 % еритроцитів. Тривалість гемолізу становила 14 хв, при цьому початкові ділянки еритрограми супроводжувалися лише незначним зменшенням оптичної густини, що характеризує передгемолітичні зміни еритроцитів – перехід з дископодібної у сферичну форму.

Розвиток ЦД супроводжувався зменшенням часу сферуляції, що проявлялося у зміщенні еритрограми ліворуч порівняно з нормою. Спостерігали скорочення тривалості гемолізу до 13 хв. Основний пік гемолізу

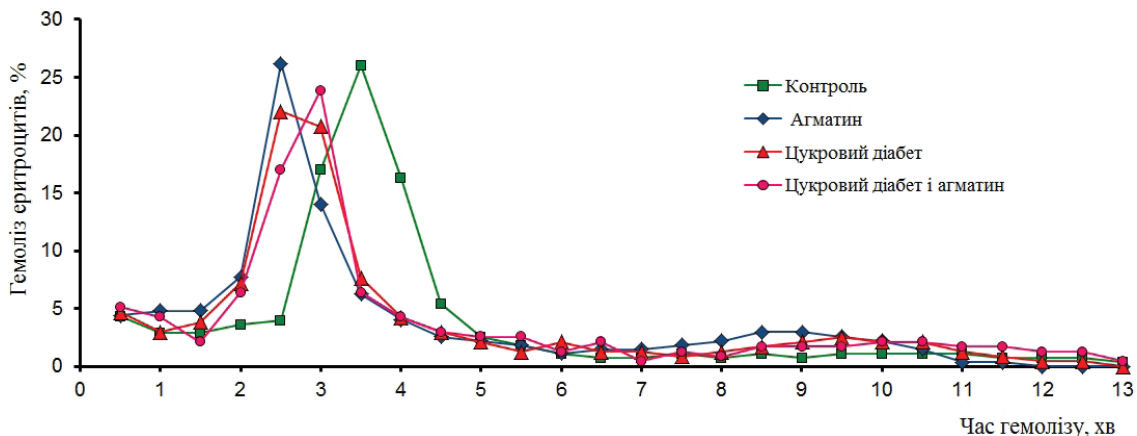


Рис. 1. Типові криві гемолізу еритроцитів під впливом соляної кислоти у нормі, за умов експериментального цукрового діабету та при введенні тваринам агматину

простежувався на 2,5 хв, вміст гемолізованих еритроцитів у цей момент становив 22 % (див. рис. 1). Зниження стійкості популяції еритроцитів до кислотного гемолізу та зростання кількості старих еритроцитів при діабеті (рис. 2) свідчить про наростання інтенсивності мембранодеструктивних процесів. Особливу роль у структурно-функціональній модифікації еритроцитарних мембран і зміні їхніх фізико-хімічних властивостей за умов цієї патології відіграє активація ПОЛ [16]. Накопичення цитотоксичних продуктів ПОЛ супроводжується зміною пластичних властивостей клітинної мембрани та збільшенням її ригідності [9, 10]. З іншого боку, інтенсифікація поліолового шляху розпаду глюкози призводить до накопичення в клітинах осмотично активних метаболітів – сорбітолу та фруктози, що сприяє набряку та зниженню осмотичної стійкості еритроцитів, впливаючи на показники гемолізу [7, 17].

При введенні агматину тваринам II групи спостерігали скорочення тривалості гемолізу до 12 хв, що супроводжувалося зменшенням часу сферуляції та зміщенням еритрограми

вліво порівняно з контролем. Найбільша частка популяції еритроцитів (26 %) гемолізувала на 2,5 хв після внесення соляної кислоти. Виявлені зміни показників кислотного гемолізу свідчать про зростання в загальному пулі еритроцитів кількості клітин із зниженою резистентністю (див. рис. 2). Це може бути зумовлене пришвидшенням старіння еритроцитів при введенні агматину.

У тварин з ЦД ін'єкція агматину (IV група) призводила до незначного зсуву піку еритрограми праворуч (з 2,5 на 3,0 хв) порівняно з тваринами, яким його не вводили (III група). Кількість гемолізованих еритроцитів у цій точці (24 %) достовірно не змінювалася, а тривалість гемолізу збільшувалася до 14,5 хв. Часткове зростання резистентності еритроцитів у цій дослідній групі відбувається внаслідок збільшення кількості молодих і зниження старих клітин у популяції (див. рис. 2). У наших попередніх дослідженнях показано, що введення тваринам з ЦД протягом 14 днів агматину призводить до зниження вмісту глюкози в крові до фізіологічних значень – з 18,0 до 4,5 ммоль/л. [18]. Тому ми припуска-

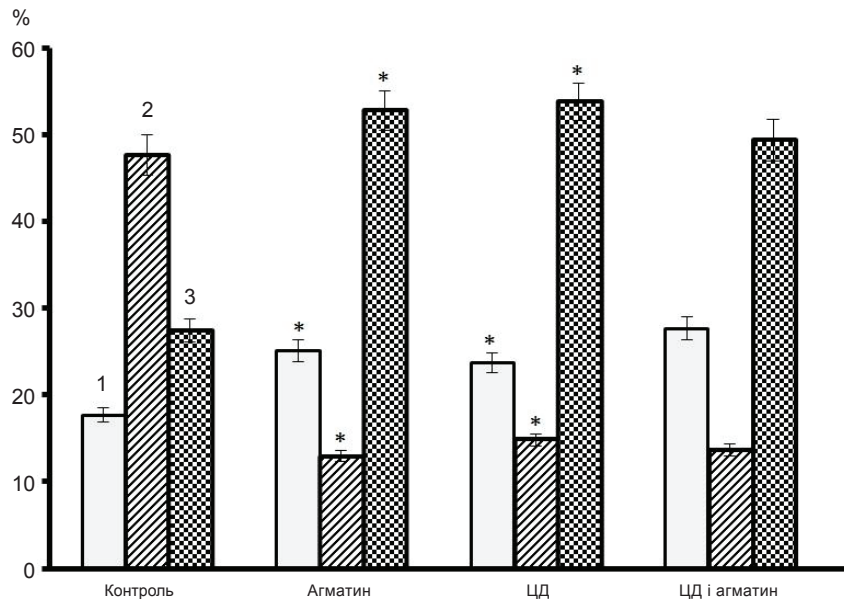


Рис. 2. Розподіл еритроцитів на віковій популяції (залежно від стійкості клітин до соляної кислоти): 1 – молоді еритроцити, 2 – еритроцити середнього віку, 3 – старі еритроцити. * $P < 0,05$ порівняно з контролем, ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями у тварин з експериментальним цукровим діабетом (ЦД)

ємо, що покращення функціонального стану еритроцитів у тварин з ЦД у відповідь на введення агматину є результатом нормалізації вмісту глюкози в крові і зниження негативного впливу глюкозотоксичності на ці клітини.

На наступному етапі роботи для дослідження інтенсивності еритропоезу підраховували кількість ретикулоцитів і їхню добову продукцію. Показано, що при ЦД у щурів ці показники достовірно збільшуються (табл. 1). Посилення інтенсивності еритропоетичної функції кісткового мозку при діабеті є компенсаторною реакцією, спрямованою на збільшення кисневої ємності крові [16]. Проте збільшення кількості ретикулоцитів на фоні зниження стійкості еритроцитів до кислотного гемолізу (див. рис. 1) свідчить про вихід у кровотік функціонально неповноцінних клітин, зі зміненим ліпідним і білковим складом клітинної мембрани та зі зниженою резистентністю, що підтверджується літературними даними [19].

На фоні введення агматину тваринам II групи результати добової продукції ретикулоцитів вказують на те, що проліферативна активність червоного ростка кровотворення не зазнає змін. Зменшення кількості ретикулоцитів у периферичній крові контрольних тварин під впливом агматину є непрямою ознакою пришвидшеного їх дозрівання і перетворення в еритроцити. Отримані результати узгоджуються з дослідженнями резистентності еритроцитів до дії кислотного гемолітика. Зниження гемолітичної стійкості цих клітин крові є наслідком зменшення відсоткового вмісту ретикулоцитів і молодих еритроцитів у периферичній крові.

При введенні агматину тваринам з ЦД (IV група) спостерігали достовірне зменшення

кількості та добової продукції ретикулоцитів (див. табл. 1). Ймовірною причиною пригнічення еритропоезу у цій групі тварин є здатність агматину впливати на гомеостаз поліамінів [20]. Такі речовини є важливими компонентами у процесах реплікації ДНК, проліферації та підтримання клітинного гомеостазу. Проникаючи з позаклітинного простору за допомогою активного перенесення системою транспорту путресцину, агматин викликає виснаження внутрішньоклітинного вмісту поліамінів. Оскільки активність поліамінтранспортної системи корелює зі швидкістю клітинної проліферації, агматин, в основному діє на клітини з високою проліферативною кінетикою, пригнічуючи їхній ріст [21, 22]. Тому ми припускаємо, що вплив агматину на клітини еритроноу за умов ЦД може бути опосередкований його інгібуючою дією на активно проліферуючі клітини-попередники еритроїдного ряду на рівні кісткового мозку.

Пригнічення агматином інтенсифікованого еритропоезу за умов ЦД все таки має нормалізуючий ефект, на що вказує збільшення резистентності еритроцитів до кислотного гемолітика. Таким чином, часткове зростання стійкості еритроцитів до гемолізу (див. рис. 1) у цій групі тварин у відповідь на введення агматину зумовлено збільшенням кількості молодих еритроцитів (див. рис. 2), а також відновленням функціонального стану клітин і зменшенням інтенсивності мембранодеструктивних процесів.

Морфологічна неоднорідність еритроцитарного пулу, пов'язана з порушення метаболізму та структури їхніх мембран, а також зміни у співвідношенні різних вікових груп еритроцитів можуть бути ідентифіковані при

Таблиця 1. Вплив агматину на кількість та добову продукцію ретикулоцитів у щурів при експериментальному цукровому діабеті (ЦД) і введенні агматину ($M \pm m$, $n=6-8$)

Показник	Контроль	Агматин	ЦД	ЦД і агматин
Кількість ретикулоцитів, %	18,83±0,60	15,58±0,29*	26,93±0,70*	22,90±0,56**
Добова продукція ретикулоцитів, тис.	116,65±2,84	114,60±2,22	129,60±1,79*	120,68±1,64**

Примітка. Тут і в табл., 2 * $P < 0,05$ порівняно з контролем, ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями у тварин з ЦД.

електронно-мікроскопічному дослідженні цих клітин [8, 23]. Тому на наступному етапі роботи ми оцінювали зміни поверхневої архітектури еритроцитів на фоні введення агматину тваринам з експериментальним ЦД і без нього методом скануючої електронної мікроскопії.

Залежно від структури клітинної поверхні еритроцити є доволі гетерогенною популяцією клітин [8, 15]. При електронно-мікроскопічному дослідженні еритроцитів периферичної крові контрольних тварин показано, що абсолютна більшість клітин представлена двовігнутими дискоцитами (рис. 3, див. табл. 2). Перехідні форми (еліпсоподібні клі-

тини, еритроцити у вигляді плоского диска, дискоцити з одним виростом, з гребенем і з множинними виростами, а також еритроцити у вигляді ягоди шовковиці) становили 7,05 %. На незворотно трансформовані (куполлоподібні та сферичні еритроцити, клітини у вигляді спущеного м'яча) припадало 3,51 % від загального пулу клітин, рідко зустрічалися дегенеративно змінені форми еритроцитів (0,62 %).

Дискоцит має високу деформабельність й еластичність, що дає змогу йому пристосовуватися до діаметра судини і рухатися в найдрібніших ділянках мікроциркуляційного русла [23]. Здатність еритроцита до зміни

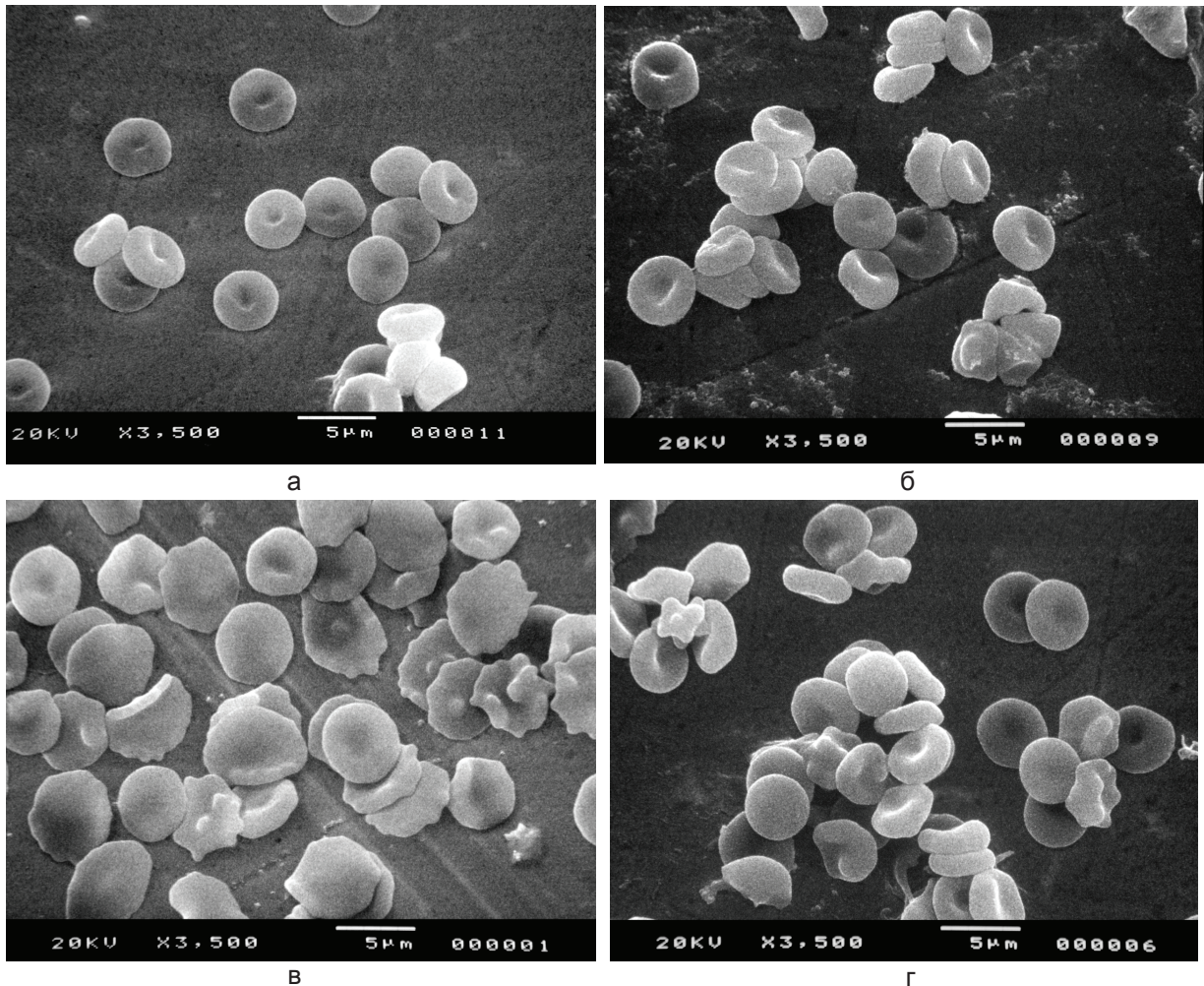


Рис. 3. Електронні мікрофотографії еритроцитів шурів: а – контроль, б – введення агматину, в – цукровий діабет (ЦД), г – ЦД і введення агматину. Скануюча електронна мікроскопія, $\times 3500$

форми забезпечується нормальним функціонуванням катіонтранспортних систем і збалансованістю молекулярної організації білкових і ліпідних компонентів клітинної мембрани. Проте наростання поліморфізму еритроцитарної популяції та збільшення кількості трансформованих клітин може виникати внаслідок екзо- й ендогенних фізико-хімічних та імунологічних впливів і є ознакою прискореного старіння еритроцитів [5].

В умовах хронічної гіперглікемії еритроцитарний пул є морфологічно неоднорідним. Порушення у внутрішньоклітинному метаболізмі та структурно-функціональній організації мембранних компонентів за умов ЦД супроводжуються збільшенням поліморфізму, розміру і форми еритроцитів, появою значної кількості деформованих і гемолізованих клітин [1]. При дослідженні поверхневої архітектоники еритроцитів тварин з ЦД виявлено достовірне зниження числа двоввігнутих дискоцитів і трикратне збільшення кількості перехідних, здатних до зворотної трансформації, клітин порівняно з нормою (див. рис. 3, табл. 2).

При ЦД 1-го типу молекулярний механізм трансформації еритроцитів може бути зумовлений підвищенням вмісту насичених

жирних кислот при зниженні ненасичених жирних кислот у фосfolіпідних фракціях мембрани еритроцита, зростанням мікров'язкості внутрішнього і модифікацією зовнішнього шарів мембрани, порушенням білок-ліпідних взаємодій, а також зниженням активності Ca^{2+} -АТФази [5]. Слід підкреслити, що Ca^{2+} -АТФаза мембрани еритроцитів є важливим регулятором внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію. Пригнічення її активності за умов дефіциту АТФ супроводжується нагромадженням останнього всередині клітини, що є причиною формування виростів і трансформації еритроцита в ехіноцит [23]. Збільшення кількості ехіноцитів завжди супроводжується підвищенням в'язкості крові. Окрім того, ригідні клітини щільно не дотикаються до стінки судин і тому не можуть повноцінно брати участь у газообміні. Рух таких клітин капілярами сповільнений, що сприяє утворенню мікротромбів [24]. Таким чином, порушення форми та рельєфу поверхні еритроцитів при ЦД визначає їхню функціональну нестабільність і призводить до зміни показників внутрішньосудинного гемолізу, що узгоджується з отриманими результатами про зниження резистентності цих клітин крові до кислотного гемолітика (див.

Таблиця 2. Морфологічна характеристика популяції еритроцитів (%) у нормі, за умов експериментального цукрового діабету (ЦД) та на фоні введення тваринам агматину (результати скануючої електронної мікроскопії, $M \pm m$, $n=6-8$)

Популяції еритроцитів	Контроль	Агматин	ЦД	ЦД і агматин
Нормальні дискоцити	88,82±3,03	77,94±4,34	72,94±4,94*	80,23±3,95
Зворотно трансформовані еритроцити	7,05±0,41	4,43±0,37*	22,69±1,85*	14,78±1,12**
еліпси	0,37±0,02	0,29±0,01	2,39±0,17*	0,67±0,03**
плоскі диски	0,52±0,03	0,62±0,05	3,47±0,26*	0,98±0,08**
дискоцити з виростом	1,26±0,11	1,08±0,08	5,82±0,49*	2,65±0,19**
дискоцити з гребенем	1,05±0,08	0,89±0,05	4,01±0,33*	0,99±0,07**
дискоцити з багатьма виростами	3,64±0,28	1,21±0,09*	6,47±0,57*	7,48±0,65
еритроцити у вигляді ягоди шовковиці	0,21±0,01	0,34±0,03	0,53±0,04*	2,01±0,17**
Незворотно трансформовані еритроцити	3,51±0,31	15,84±1,10*	3,84±0,23	4,01±0,39
кулоподібні	1,65±0,11	8,27±0,69*	2,39±0,21*	1,98±0,15
сферичні	1,03±0,08	4,81±0,32*	0,79±0,05*	1,14±0,10**
у вигляді спущеного м'яча	0,83±0,07	2,76±0,19*	0,66±0,04	0,89±0,07
Дегенеративні форми	0,62±0,05	1,79±0,12*	0,53±0,04	0,98±0,09**

рис. 1). Зменшення стійкості еритроцитарної мембрани посилює еритродієрез, що є причиною порушення газотранспортної функції крові, наростання гіпоксії та погіршення основного патологічного стану [16].

Введення агматину тваринам без діабету призводило до значних змін у кількісному розподілі окремих морфологічних форм еритроцитів. На фоні зниження числа дискоцитів (на 12 %) і здатних до зворотної трансформації форм еритроцитів (на 37 %) кількість незворотно трансформованих і дегенеративних клітин достовірно перевищувала відповідні показники у тварин, яким агматин не вводили (див. рис. 3, табл. 2). Виявлені порушення поверхневої архітекτονіки циркулюючих еритроцитів на фоні введення агматину свідчать про однаправлені зміни в системі еритроциту, спрямовані у бік старіння популяції та зниження функціональної повноцінності клітин.

При електронно-мікроскопічному дослідженні поверхневої архітекτονіки еритроцитів тварин з ЦД на фоні введення агматину (IV група) виявлено незначне зростання кількості двоввігнутих дискоцитів. Частка перехідних форм еритроцитів, які за сприятливих фізіологічних умов здатні до трансформації у дискоцити, знижувалася на 35 %. У зменшенні кількості цієї морфологічної групи червоних клітин крові визначальну роль відіграло зниження відсоткового вмісту клітин у вигляді еліпсів і плоских дисків, а також дискоцитів з одним виростом і гребенем, проте частка дискоцитів з багатьма виростами й еритроцитів у вигляді ягоди шовковиці достовірно зростала порівняно з показниками тварин з ЦД, яким агматин не вводили (III група; див. табл. 2). Збільшення частки функціонально повноцінних дискоцитів і зменшення кількості здатних до зворотної трансформації еритроцитів у тварин з ЦД відображає позитивний вплив агматину внаслідок вираженої цукрознижувальної дії. Нормалізація вмісту глюкози в крові супроводжується відновленням внутрішньоклітинних метаболічних процесів і покращенням морфофункціональних

характеристик мембран еритроцитів.

Таким чином, введення агматину тваринам без ЦД призводило до погіршення фізіологічного стану еритроцитів, тоді як у разі діабету проявлялася його коригуюча дія на функціональний стан клітин еритроциту. Ймовірно, такі різноспрямовані фізіологічні ефекти агматину зумовлені різним механізмом його дії залежно від функціонального стану організму. Нормалізуючи вміст глюкози в крові тварин з ЦД, агматин призводить до зниження ефекту глюкозотоксичності на еритроцити периферичної крові, що покращує їхній функціональний стан. Тоді як за нормальних фізіологічних умов надлишок цього поліаміну спричинює дисрегуляцію сигнальних і метаболічних шляхів, що опосередковано виявляє негативний вплив на клітини еритроїдного ряду.

ВИСНОВКИ

1. Наростання морфологічної неоднорідності популяції еритроцитів та зниження їхньої резистентності до дії кислотного гемолітика при ЦД свідчить про підвищення інтенсивності деструктивних процесів у мембрані цих клітин крові в умовах гіперглікемії, що є причиною пришвидшення їхнього руйнування та, відповідно, посилення еритропоезу.

2. Введення агматину у разі ЦД призводить до часткового відновлення досліджуваних показників, що зумовлено не лише виявленням гіпоглікемічної дії, але й здатністю цього поліаміну впливати на інтенсивність еритропоезу.

**І.В. Ференц, І.В. Бродяк, М.Я. Люта,
О.Р. Кулачковський, Н.А. Сибірна**

ЭФФЕКТ ПРОДУКТА ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЯ L-АРГИНИНА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ У КРЫС

В статье приведены результаты исследования влияния агматина на устойчивость эритроцитов к кислотному

гемолитику, кількість і суточну продукцію ретикулоцитів і поверхню архітектуру еритроцитів в умовах стрептозотоцинового сахарного діабету у крыс. Показано, що введення агматину животним з діабетом приводить до зниженню інтенсивності еритропоза і зростанню резистентності еритроцитів до соляної кислоти. Установлено підвищення частки молодих еритроцитів на 10% і зменшення кількості перехідних форм кліток, здатних при фізіологічних умовах до трансформації в дискоцити, на 35%. Отримані результати свідчать про покращення морфофункціональних характеристик еритроцитів при діабеті і відображають позитивний вплив агматину на клітки еритроноу за рахунок сахаропонижального дії цього поліаміну.

Ключові слова: еритроцити, агматин, експериментальний сахарний діабет.

**I. V. Ferents, I. V. Brodyak, M. Ya. Lyuta,
O. R. Kulachkovsky, N. A. Sybirna**

EFFECTS OF AGMATINE TREATMENT ON MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE ERYTHRON IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS IN RATS

This paper reports the results of a study of the impact of the agmatine treatment on erythrocyte resistance to acid hemolytic, reticulocyte count and reticulocyte production index, erythrocyte surface architectonics in streptozotocin-induced diabetic rats. Our results indicate that treatment of diabetic rats with agmatine causes a suppression of erythropoiesis and increases the resistance of erythrocytes against HCl-induced hemolysis. It was shown a 10% increase in the number of young red blood cells and 35% reduction in the number of structurally transformed erythrocytes that are capable of restoring normal biconcave disc shape under physiological condition. Our data demonstrate an improvement of morphofunctional state of red blood cells in diabetes and reflect the positive effect of agmatine treatment on erythron due to the glucose-lowering action.

Key words: red blood cells, agmatine, experimental diabetes mellitus.

Ivan Franko National University of Lviv

REFERENCES

1. Vydyborets SV. Erythrocytic changes in diabetes mellitus (a review of the literature). *Vrach Delo*. 1990 Feb;(2):56-61. [Russian].
2. Tsirkin VI, Dvoryanskiy SA, Troshkina NA. Red blood cell: structure and function of its membrane. *Vyatskiy med vestnik*. 2007;(2):32-40. [Russian].
3. Katyuhin LN. Rheological properties of erythrocytes. Modern methods of investigation. *Ros Fiziol Zh im. I.M. Sechenova*. 1995; 81(6):122-9. [Russian].
4. Berezina TL, Zaets SB, Morgan C, Spillert CR, Kamiyama M, Spolarics Z, Deitch EA, Machiedo GW. Influence of storage on red blood cell rheological properties. *J Surg Res*. 2002 Jan;102(1):6-12.
5. Kravets EB, Ryazantseva NV, Jakovleva NM. Features of microrheological properties of erythrocytes in vascular complications of type 1 diabetes mellitus. *Sakharnyi diabet*. 2005; (1):14-7. [Russian].
6. Sokolov EI, Zaboltnov VI, Podachina SV, Baluda MV. Disturbances of rheological properties of the blood and disorders of lipid spectrum of membranes of red-blood-cells in patients with diabetes. *Kardiologia*. 1996; 36(9):67-70. [Russian].
7. Lipunova EA, Tugin VN, Rezanova TA. Change of the hematology parameters of elderly people's with diabetes mellitus. *Nauchnyye vedomosti BelGU. Ser. Estestvennyye nauki*. 2007; 5(5):140-3. [Russian].
8. Novitskiy VV, Ryazantseva NV, Stepovaya EA, Fedorova TS, Kravets EB, Ivanov VV, Zhavoronok TV, Chasovskih NYu, Chudakova OM, Butusova VN, Yakovleva NM. Molecular abnormalities of erythrocyte membrane in the pathology of different genesis are typical reaction of the body: the contours of the problem. *Byul. Sib. Med*. 2006; (2):62-9. [Russian].
9. Rabini RA., Fumelli P, Staffolani R, Mazzanti L, Pugnali A, Biagini G, Faloia E, De Pirro R. Effects of diabetes mellitus on structural and functional properties of erythrocyte membranes. *Membr Biochem*. 1993 Apr-Jun;10(2):71-9.
10. Singh M, Shin S. Changes in erythrocyte aggregation and deformability in diabetes mellitus: a brief review. *Indian J Exp Biol*. 2009 Jan;47(1):7-15.
11. Kuypers FA, Lewis RA., Hua M, Schott MA, Discher D, Ernst JD, Lubin BH. Detection of altered membrane phospholipid asymmetry in subpopulations of human red blood cells using fluorescently labeled annexin V. *Blood*. 1996 Feb 1; 87(3):1179-87.
12. Gitel'zon II, Terskov IA. The erythrogram as a method of clinical investigation of the blood. *Krasnoyarsk: Scientific academy of USSR, Siberia department*; 1959. 246 p. [Russian].
13. Sybirna NO, Burda VA, Chajka YaP. *Metody doslidzhennya systemy krovi: Navchal'no-metodychnyj posibnyk Research Methods of Blood: Textbook. Vydavnychj centr LNU imeni Ivana Franka - Publishing Center of Ivan Franko LNU*, 2005. 100 p. [Ukrainian].
14. Ionov BV, Chernukh AM. Morphological differences between erythrocytes of arterial and venous rat blood revealed by scanning electron microscopy. *Bul Exp Biol and Med*. 1981 Dec; 92(12):749-51. [Russian].
15. Novoderzhkina YK, Shishkanova ZG, Kozinets GI. Blood cell configuration and surface under normal and pathological conditions. *Moscow: «Triada-farm»*; 2004. 152 p. [Russian].
16. Burda V, Byront N, Sybirnay N, Kleveta G. Investigation of erythron functional state under the conditions of streptozotocin-induced diabetes. *Vis L'viv Univ. Biology*

- Series. 2002; 28:21-7. [Ukrainian].
17. Bondar TP, Kozinets GI. Morphofunctional condition of the peripheral blood erythrocytes in late vascular complications of diabetes mellitus of type 2. *Klin Lab Diagnost.* 2002;(12):22-34. [Russian].
 18. Ferents IV, Brodyak IV, Lyuta MYa. Effect of agmatine on the blood parameters of rats in experimental diabetes mellitus. *Studia Biologica.* 2012; 6(3): 65-72. [Ukrainian].
 19. Kurilovich SA, Kruchinina MV, Generalov VM, Bakirov TS, Rikhter VA, Semenov DV. Electrical parameters and structure of membranes of erythrocytes at diffuse liver diseases. *Ros. Zhurn. Gastroenterol. Gepatol. Koloproktol.* 2009; 19(2):30-6. [Russian].
 20. Satriano J, Isome M, Casero RA Jr, Thomson SC, Blantz RC. Polyamine transport system mediates agmatine transport in mammalian cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001 Jul; 281(1):C329-34.
 21. Arndt MA, Battaglia V, Parisi E, Lortie MJ, Isome M, Baskerville C, Pizzo DP, Ientile R, Colombatto S, Toninello A, Satriano J. The arginine metabolite agmatine protects mitochondrial function and confers resistance to cellular apoptosis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009 Jun;296(6):C1411-9
 22. Satriano J, Matsufuji S, Murakami Y, Lortie MJ, Schwartz D, Kelly CJ, Hayashi S, Blantz RC. Agmatine suppresses proliferation by frameshift induction of antizyme and attenuation of cellular polyamine levels. *J Biol Chem.* 1998 Jun 19;273(25):15313-6.
 23. Mineev VN, Lalaeva TM. Surface architectonics and cytoskeleton of erythrocytes and their modulation by adrenergic agents in patients with bronchial asthma. *Ter Arkh.* 2004;76(3):12-7. [Russian].
 24. Bondar TP, Shmarov DA, Kozinets GI Morphometric and biochemical analysis of erythrocytes in smoking patients with late vascular complications of diabetes mellitus. *Klin Lab Diagnost.*, 2003 Aug; (8):37-40. [Russian].

Львів. нац. ун-т імені Івана Франка
E-mail: iryna_ferenc@i.ua

Матеріал надійшов до
редакції 18.03.2013