

УДК 577.356:616.4:537.226.2

ДИЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ПРОНИЦАЕМОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ КРОЛЕЙ НА ЧАСТОТЕ 9,2 ГГц ПРИ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА И ПРИМЕНЕНИИ САХАРОСНИЖАЮЩИХ СРЕДСТВ

¹Д.В. Соловьев, ¹О.А. Горобченко, ¹Т.А. Шаталова, ¹Т.Н. Овсянникова,
²А.И. Гладких, ¹О.Т. Николов, ¹С.В. Гаташ

¹Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы 4, Харьков 61022,
Украина;

²Институт проблем эндокринной патологии имени В.Я. Данилевского АМН Украины, ул. Артема
10, Харьков 61002, Украина; e-mail: dmytro.soloviov@gmail.com

Поступила в редакцию 5 декабря 2011

Принята 20 декабря 2011

Работа посвящена изучению влияния различных методов фармакологической коррекции экспериментального сахарного диабета 2 типа на диэлектрические свойства эритроцитов кролей. В эксперименте на кролях была применена модель дексаметазонового сахарного диабета. В качестве исследуемых образцов использовалась эритроцитарная масса интактных животных, кролей с сахарным диабетом, получавших воду (группа плацебо) и сахароснижающие препараты – метформин и новое перспективное соединение 1408. Методом СВЧ-диэлектростатометрии на частоте 9,2 ГГц были получены значения действительной ϵ' и мнимой ϵ'' частей комплексной диэлектрической проницаемости эритроцитарной массы кролей. Обнаружено увеличение средних значений диэлектрических потерь ϵ'' , статической диэлектрической проницаемости ϵ_s эритроцитов, а также дисперсий этих параметров в группе кролей с диабетом без коррекции по сравнению с контролем. При коррекции диабета соединением 1408 снижения данных показателей не происходит. При использовании для коррекции диабета метформина наблюдается тенденция к уменьшению средних значений величин ϵ' , ϵ'' и ϵ_s эритроцитов, а также дисперсий этих параметров по сравнению с группой кролей с диабетом без коррекции. Группа кролей, получавшая метформин, единственная достоверно не отличающаяся от контроля по параметрам ϵ'' и ϵ_s .

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: СВЧ-диэлектростатометрия, эритроциты, диэлектрическая проницаемость, сахарный диабет, гидратация.

ДИЕЛЕКТРИЧНА ПРОНИКНІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ КРОЛІВ НА ЧАСТОТІ 9,2 ГГц ПРИ ДІАБЕТІ 2 ТИПУ І ВИКОРИСТАННІ ЦУКРОЗНИЖУЮЧИХ ЗАСОБІВ

¹Д.В. Соловійов, ¹О.О. Горобченко, ¹Т.А. Шаталова, ¹Т.М. Овсяннікова, ²А.І. Гладких,
¹О.Т. Ніколов, ¹С.В. Гаташ

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, пл. Свободи 4, Харків 61022, Україна;

²Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я. Данілевського АМН України, вул. Артема 10, Харків
61002, Україна.

Робота присвячена вивченню впливу різних методів фармакологічної корекції експериментального цукрового діабету 2 типу на діелектричні властивості еритроцитів кролів. В експерименті на кролях була застосована модель дексаметазонового цукрового діабету. В якості досліджуваних зразків використовувалася еритроцитарна маса інтактних тварин, кролів із цукровим діабетом, які отримували воду (група плацебо) і цукрознижувальні препарати - метформін і нову перспективну сполуку 1408. Методом НВЧ-діелектростатометрії на частоті 9,2 ГГц були отримані значення дійсної ϵ' та уявної ϵ'' частин комплексної діелектричної проникності еритроцитарної маси кролів. Виявлено збільшення середніх значень діелектричних втрат ϵ'' , статичної діелектричної проникності ϵ_s еритроцитів, а також дисперсій цих параметрів у групі кролів із діабетом без корекції в порівнянні з контролем. При корекції діабету сполукою 1408 зниження даних показників не відбувається. При використанні для корекції діабету метформіну спостерігається тенденція до зменшення середніх значень величин ϵ' , ϵ'' і ϵ_s еритроцитів, а також дисперсій цих параметрів у порівнянні з групою кролів із діабетом без корекції. Група кролів, яка отримувала метформін, єдина, що достовірно не відрізняється від контролю за параметрами ϵ'' і ϵ_s .

КЛЮЧОВІ СЛОВА: СВЧ-діелектростатометрія, еритроцити, діелектрична проникність, цукровий діабет, гідратація.

**DIELECTRIC PERMITTIVITY OF RABBIT ERYTHROCYTES UNDER TYPE 2 DIABETES
AND APPLICATION OF GLUCOSE-LOWERING AGENTS AT 9.2 GHz**

**¹D.V. Soloviov, ¹O.A. Gorobchenko, ¹T.A. Shatalova, ¹T.M. Ovsyannikova, ²A.I. Gladkyh,
¹O.T. Nikolov, ¹S.V. Gatash**

¹*V.N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv 61022, Ukraine;*

²*Institute of Problems of Endocrine Pathology, AMS of Ukraine, 10 Artema Street,
Kharkiv 61002, Ukraine.*

This paper covers the effect of different methods of pharmacological correction of the experimental type 2 diabetes on the dielectric characteristics of rabbit erythrocytes. In the experiments dexamethasone model of diabetes was used. As samples packed rabbit erythrocytes of intact animals, packed rabbit erythrocytes treated with water (placebo group), and packed rabbit erythrocytes treated with glucose-lowering agents – metformin and the new experimental compound 1408 were used. Using the method of UHF dielectrometry at the frequency of 9.2 GHz values of the real ϵ' and imaginary ϵ'' parts of the complex permittivity of packed rabbit erythrocytes have been obtained. An increase in the average values of the dielectric loss ϵ'' , in the static dielectric permittivity ϵ_s of erythrocytes, as well as an increase in the dispersion of these parameters in the group of rabbits with diabetes without correction compared with the controlled group. When treated with the compound 1408 no reduction of the parameters was observed. When using metformin for the correction of diabetes the tendency to the decrease in average values of ϵ' , ϵ'' , and ϵ_s erythrocytes is observed, as well as in the dispersion of these parameters in comparison with the group of rabbits with diabetes without correction. Group of rabbits which received metformin only were not significantly different from the controlled group in the parameters ϵ'' and ϵ_s .

KEY WORDS: UHF dielectrometry, erythrocytes, permittivity, diabetes, hydration.

Известно, что сахарный диабет занимает третье место в качестве прямой причины инвалидности и смерти и затрагивает около 7% населения во всем мире [1]. Накопленные за последнее время исследования показывают, что одним из звеньев патогенеза многих заболеваний, в том числе сахарного диабета, являются изменения структуры и функций биологических мембран [2-8]. Процессы, протекающие в клетках крови при стрессе и клинической патологии, отражают реакцию клеток на уровне всего организма [4, 9, 10]. Учитывая схожесть организации и функционирования мембран эритроцитов с другими биологическими мембранами, эти клетки могут служить показателем состояния мембранного аппарата тканей всего организма и степени их нарушения при патологии [11].

Объемная фаза воды и ее состояние в клетках играют важную роль в управлении метаболическими процессами [12]. Отмечается существенное значение структурированной внеклеточной воды в стабилизации поверхностного слоя эритроцитов [13, 14]. Гидратация полярных и заряженных головок липидов существенно влияет на энергетику гидрофобного взаимодействия [15], которое является основной силой, стабилизирующей липидные структуры [16]. Гидратационные силы играют важную роль при взаимодействии между фосфолипидными мембранами [15]. Так поляризация молекул воды вблизи полярных липидных головок приводит к сильному отталкиванию при сближении двух бислоев, что удерживает их на расстоянии 10-30 Å и препятствует сближению мембран и их непосредственному контакту [16]. Вода определяет равновесие сил в пределах биологических структур и наряду с регуляторным воздействием на процессы функционирования белковых макромолекул и мембранных структур играет общерегуляторную роль также на уровне клетки в целом [12]. Поэтому значительное внимание уделяется исследованию состояния воды внутри и вне клетки в норме и при различных патологиях – опухолевых заболеваниях [17], инфекционных процессах [5], при диабете [18] и др. [19].

Одним из методов исследования состояния воды в биологических системах является метод СВЧ-диэлектрометрии в области дисперсии молекул воды. Целью данной работы было исследование этим методом влияния патологии (экспериментального сахарного диабета 2 типа) на состояние воды эритроцитов

подопытных животных в условиях экспериментального и применяющегося в клинических условиях лечения по сравнению с нормой. Для фармакологической коррекции диабета использовался метформин, являющийся антидиабетическим препаратом «золотого стандарта», и новый перспективный препарат с сахароснижающими свойствами – соединение 1408. Препарат 1408 разработан и синтезирован в Институте проблем эндокринной патологии имени В.Я. Данилевского АМН Украины (г. Харьков). В настоящее время он проходит испытание в экспериментах на животных как антидиабетический сахароснижающий препарат.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовали эритромассу крови кролей из питомника Института эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины. Исследовались диэлектрические параметры эритроцитов четырех групп животных. Первая группа – контроль, интактные кроли (5 особей). Вторая группа – кроли с модельным сахарным диабетом, получавшие в качестве плацебо воду (5 особей). Плацебо применяли, чтобы учесть стресс, который получают животные при введении им препарата, и уравнивать группы по действию этого фактора. Третья группа – кроли с модельным сахарным диабетом, получавшие метформин (4 особи). Четвертая группа – кроли с модельным сахарным диабетом, получавшие новое экспериментальное средство с сахароснижающим действием – соединение 1408 (3 особи). Препараты и плацебо животным вводили *per os* с помощью зонда. Диабет вызывался введением дексаметазона по принятой схеме [20]. Общее число животных в эксперименте составляло 17 особей.

Сахароснижающие препараты и плацебо вводили животным в течение 10 дней ежедневно. Последний раз – за сутки до забора крови. После забора цельную венозную кровь кролей, стабилизированную гепарином, хранили в холодильнике при температуре +4°C в течение 1-3 суток. Кровь некоторых животных исследовали в день забора. В каждую группу животных вводили образцы крови с разным сроком хранения.

Образцы эритроцитов готовили из цельной крови непосредственно перед измерением диэлектрических параметров. Для этого кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут, отбирали плазму и снимали лейкоцитарную пленку с поверхности осевших эритроцитов. Затем клетки отмывали три раза физиологическим раствором (0,15М NaCl, pH=7,3). После последнего центрифугирования с эритроцитов полностью удаляли надосадочную жидкость, а оставшиеся плотно осажденные клетки использовали непосредственно для измерений. Исследование неразведенных эритроцитов позволило избежать погрешностей концентрации клеток, возникающих при разведении, а также позволило повысить величину «эффекта» за счет максимально возможного количества клеток в исследуемом образце.

Диэлектрические параметры клеток (действительную ϵ' и мнимую ϵ'' части комплексной диэлектрической проницаемости) измеряли методом СВЧ-диэлектromетрии с использованием цилиндрического H_{01n} резонатора с аксиальным расположением образца на частоте 9,2 ГГц при комнатной температуре [21]. Стандартное отклонение для измеренных значений ϵ' составляло $\pm 0,2$, а для ϵ'' – $\pm 0,5$. В измеренную величину ϵ'' поправку на проводимость не вносили, т.к. для эритромассы значения удельной электропроводности невелики и сопоставимы с погрешностью её измерения.

Из литературных данных [17, 22] известно, что релаксационные характеристики свободной воды в различных биологических тканях и, в частности, в уплотненных эритроцитах не отличаются от чистой воды, и область γ -дисперсии эритроцитов может

быть описана при помощи уравнений Дебая [23]:

$$\varepsilon' = \varepsilon_{\infty} + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_{\infty}}{1 + (f / f_D)^2}, \quad (1)$$

$$\varepsilon'' = \frac{(\varepsilon_s - \varepsilon_{\infty})f / f_D}{1 + (f / f_D)^2}, \quad (2)$$

где ε_{∞} и ε_s – высокочастотная и низкочастотная (статическая) диэлектрические проницаемости, соответственно, f_D и f – частота диэлектрической релаксации и частота микроволнового поля, соответственно, ε_{∞} принимали равным 5,6 [24]. Используя эти уравнения рассчитывали частоту диэлектрической релаксации молекул воды в эритроцитах f_D и значение диэлектрической проницаемости на нижнем участке области дисперсии молекул воды – статическую диэлектрическую проницаемость ε_s .

Обработку результатов проводили в программном пакете Origin 8 Pro, проверку на нормальность распределения проводили при помощи теста Шапиро-Уилка в соответствии с уровнем значимости $p < 0,05$, дисперсионный анализ и множественные сравнения (при помощи критерия Фишера по методу LSD) с уровнем значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований с использованием теста Шапиро-Уилка показали, что значения как действительной, так и мнимой части комплексной диэлектрической проницаемости эритроцитов кролей всех групп соответствуют нормальному закону распределения. Дисперсионный анализ показал, что нулевая гипотеза о равенстве средних значений может быть отвергнута для параметров ε'' и ε_s . Для параметров ε' и f_D нулевая гипотеза не может быть отвергнута ($p > 0,1$ и $p > 0,54$ соответственно), однако низкая мощность полученного результата (49% и 17% соответственно) не позволяет принять нулевую гипотезу, и таким образом сделать вывод об отсутствии эффекта. Тем не менее, стоит отметить тенденцию к увеличению средних значений ε' (рис. 1, табл. 1) групп животных с диабетом без коррекции и с коррекцией обоими препаратами по сравнению с контрольной группой (группа 1).

Выявление статистически значимых различий между группами по параметрам ε'' и ε_s проводили методом множественного сравнения с использованием критерия Фишера LSD. Было установлено увеличение средних значений ε'' и ε_s эритроцитов группы кролей с диабетом без коррекции (группа 2) по сравнению с контролем (группа 1) с уровнем значимости $p = 0,04$ и $p = 0,05$, соответственно. По сравнению с контрольной группой наблюдалось увеличение средних значений ε'' и ε_s эритроцитов кролей, получавших соединение 1408 (группа 4) ($p = 0,003$ и $p = 0,006$, соответственно). Для кролей с диабетом, получавших метформин (группа 3), отличий при сравнении с контрольной группой по данным показателям выявлено не было ($p = 0,07$ для ε'' и $p = 0,12$ для ε_s).

Сравнение средних значений величин ε'' и ε_s эритроцитов кролей с диабетом, получавших метформин (группа 3) и соединение 1408 (группа 4), и эритроцитов животных с диабетом без коррекции (группа 2) показало отсутствие отличий по данным показателям (группа 3 – $p = 0,87$ для ε'' и $p = 0,75$ для ε_s , группа 4 – $p = 0,11$ для ε'' и $p = 0,18$ для ε_s , соответственно). Различий между группами животных с диабетом, получавших метформин и соединение 1408, как по ε'' , так и по ε_s также не наблюдалось ($p = 0,09$ и $p = 0,13$).

Полученные данные свидетельствуют о следующем. При модельном диабете

происходит повышение диэлектрической проницаемости ϵ' (тенденция), диэлектрических потерь ϵ'' и статической диэлектрической проницаемости ϵ_s (достоверное отличие) (рис. 1, 2, 3 и табл. 1). Применение экспериментального препарата (соединение 1408, группа 4) усиливает эту тенденцию для ϵ' , а для ϵ'' и ϵ_s наблюдается достоверное увеличение этих показателей по сравнению с показателями здоровых кролей (группа 1). По сравнению с группой кролей с диабетом без коррекции (группа 2) диэлектрические параметры ϵ' , ϵ'' и ϵ_s эритроцитов кролей, получавших соединение 1401, имеют тенденцию к увеличению.

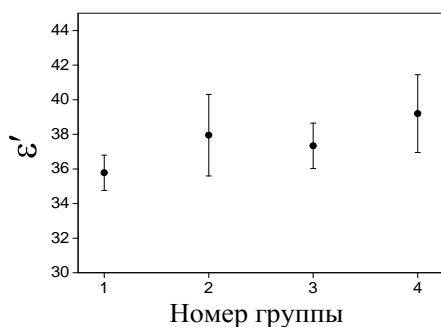


Рис. 1. Значения действительной части комплексной диэлектрической проницаемости ϵ' эритроцитов кролей: 1 – контроль; 2 – модельный диабет, плацебо; 3 – модельный диабет, метформин; 4 – модельный диабет, соединение 1408. Приведены средние значения показателя и стандартные отклонения.

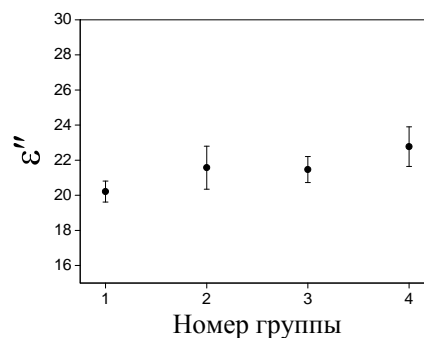


Рис. 2. Значения мнимой части комплексной диэлектрической проницаемости ϵ'' эритроцитов кролей: 1 – контроль; 2 – модельный диабет, плацебо; 3 – модельный диабет, метформин; 4 – модельный диабет, соединение 1408. Приведены средние значения показателя и стандартные отклонения.

Таблица 1. Средние значения ϵ' , ϵ'' , ϵ_s и f_D эритроцитов кролей: группа 1 – контроль; группа 2 – модельный диабет, плацебо; группа 3 – модельный диабет, метформин; группа 4 – модельный диабет, соединение 1408.

Показатели		Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
ϵ'	Среднее значение ± доверительный интервал ($\alpha=0,05$)	36±2	38±4	37±3	39±6
	Дисперсия	1	5,6	1,7	5
	Коэффициент вариации, %	2,8	6,3	3,5	5,9
ϵ''	Среднее значение ± доверительный интервал ($\alpha=0,05$)	20±1 ^{1,2}	22±2 ¹	21±2	23±3 ²
	Дисперсия	0,4	1,5	0,6	1,3
	Коэффициент вариации, %	3	5,6	3,3	5,9
ϵ_s	Среднее значение ± доверительный интервал ($\alpha=0,05$)	49±2 ^{3,4}	52±5 ³	52±3	55±7 ⁴
	Дисперсия	1,7	8,6	2,9	7,6
	Коэффициент вариации, %	2,6	5,5	3,3	5,1
f_D	Среднее значение ± доверительный интервал ($\alpha=0,05$)	13,7±0,4	13,8±0,5	13,6±0,2	13,6±0,5
	Дисперсия	0,06	0,07	0,01	0,03
	Коэффициент вариации, %	1,7	2	0,8	1,3
Объем выборки		5	5	4	3

Примечание: индексами ^{1, 2, 3, 4} обозначены значения показателей, между которыми наблюдались достоверные отличия с уровнем значимости $p \leq 0,05$.

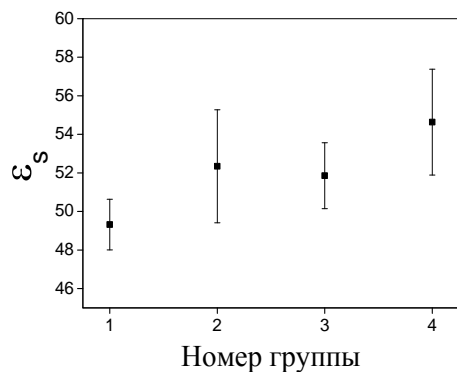


Рис. 3. Значения статической диэлектрической проницаемости ϵ_s эритроцитов кролей: 1 – контроль; 2 – модельный диабет, плацебо; 3 – модельный диабет, метформин; 4 – модельный диабет, соединение 1408. Приведены средние значения показателя и стандартные отклонения.

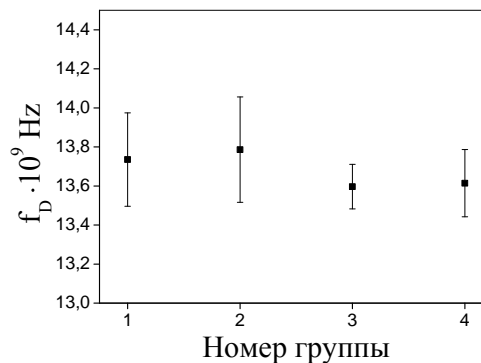


Рис. 4. Значения частоты диэлектрической релаксации молекул воды f_D эритроцитов кролей: 1 – контроль; 2 – модельный диабет, плацебо; 3 – модельный диабет, метформин; 4 – модельный диабет, соединение 1408. Приведены средние значения показателя и стандартные отклонения.

Средние значения диэлектрической проницаемости ϵ' и потерь ϵ'' эритроцитов кролей, получавших метформин (группа 3), занимают промежуточные положения между соответствующими показателями контрольной группы и группы без коррекции диабета (табл. 1), однако достоверных отличий при сравнении этих параметров с соответствующими параметрами групп 1 и 2 не наблюдается. Т.е. при использовании метформина имеет место тенденция к уменьшению диэлектрической проницаемости ϵ' и потерь ϵ'' эритроцитов по сравнению с эритроцитами кролей без коррекции. Эта тенденция свидетельствует о положительном влиянии метформина, которое подтверждается еще и тем, что группа кролей, получавшая этот препарат, единственная достоверно не отличающаяся от контроля по параметрам ϵ'' и ϵ_s .

На рис. 4 и в табл. 1 приведены средние значения частоты диэлектрической релаксации молекул воды f_D эритроцитов крови исследуемых групп, которые, как видно, практически совпадают, что свидетельствует об отсутствии влияния диабета и его коррекции на структуру внутриклеточной воды эритроцитов. Эта вода вносит основной вклад в величину f_D , поскольку исследуемые образцы представляли собой уплотненные клетки, внеклеточной объемной фазы воды в образцах практически не было. Результаты некоторых работ [22, 25] подтверждают предположение о том, что диэлектрические свойства внутриклеточной воды или гемоглобинсуспенсирующей среды эритроцитов такие же, как и у свободной воды. По нашим данным среднее значение частоты диэлектрической релаксации молекул воды f_D эритроцитов равно 13,7 ГГц, что несколько меньше, чем у чистой воды (16,4 ГГц), и это может свидетельствовать о ее некоторой заторможенности. Однако полученное значение практически совпадает со значением f_D свободной воды при 20 °С (13,6 ГГц), полученном в работе [26], и близко к данным других авторов (16,7, 15,8 и 12,6 ГГц), приведенным в этой же работе.

Диэлектрические свойства эритроцитов на частоте 9,2 ГГц определяются преимущественно количеством свободной воды и ее частотой релаксации. Поскольку диабет и его коррекция не влияют на частоту диэлектрической релаксации молекул воды в эритроцитах, наблюдаемое увеличение диэлектрических потерь и статической диэлектрической проницаемости эритроцитов при диабете, вероятнее всего, обусловлено увеличением в образцах количества свободной воды и уменьшением

количества связанной воды и/или неводных компонент клеток. Такие изменения в клетках и тканях были зафиксированы многими авторами при различных патологиях. Так, повышение объемной доли свободной воды в опухолевых тканях животных и, соответственно, их диэлектрической проницаемости при частотах выше 1 ГГц по сравнению со здоровыми тканями было обнаружено в работе [17]. Методом СВЧ-диэлектromетрии на частоте 9,2 ГГц обнаружено увеличение действительной части комплексной диэлектрической проницаемости суспензий эритроцитов и уменьшение гидратации эритроцитов онкобольных [11]. При помощи метода спектра мутности было зафиксировано повышение содержания воды в эритроцитах и понижение в них концентрации сухого вещества у больных ангиной [5]. Также было обнаружено повышение содержания свободной и понижение количества связанной воды в плазме крови и эритроцитах у беременных с неосложненным гестационным процессом и анемией [19]. Такие изменения в работе [19] объясняются тем, что в процессе адаптации в результате мобилизации функциональных резервов в организме специфические физиологические, гормональные и биохимические изменения в конечном итоге приводят к универсальной реакции неспецифического характера – изменению гидратной оболочки макромолекул и соотношения свободная/связанная вода, что повышает их устойчивость к воздействию повреждающих факторов. Защитное свойство структурированной воды, находящейся на поверхности эритроцита, отмечается также в [13]. Ряд работ подтверждает данные предположения. Так, вариации концентрации белков сыворотки не приводят к изменению коллоидной осмолярности крови за счет согласованного изменения гидратации белков [27]. Предложенный в работе [28] механизм срочной осморегулирующей реакции отводит важную роль изменению фазовых свойств воды гидратной оболочки биополимеров в поддержании в определенных пределах активности (химического потенциала) воды как физико-химического показателя гомеостаза на молекулярном уровне и как системной функции на клеточном и тканевом уровнях гомеостаза. Таким образом, наблюдаемые нами изменения диэлектрических параметров эритроцитов крови при диабете в группах больных животных могут быть неспецифической реакцией на патологию и ее коррекцию, обеспечивающей поддержание гомеостаза в крови.

Согласно выводам работы [19] процент связанной воды повышается на стадии резистентности в результате включения механизмов адаптации и снижается на стадии истощения, когда адаптационные возможности организма исчерпаны, на основании чего по содержанию связанной воды в крови можно судить о состоянии адаптационных механизмов организма. Исходя из этого может быть объяснено наблюдаемое увеличение в 3-5 раз дисперсий и приблизительно в 2 раза коэффициентов вариации диэлектрических параметров (ϵ' , ϵ'' и ϵ_s) эритроцитов кролей с диабетом без коррекции по сравнению с контролем (табл. 1). Так, в группе больных животных без коррекции есть особи, адаптационные особенности организма которых позволяют удерживать гомеостаз на уровне, при котором состояние воды в эритроцитах близко к норме, поэтому и диэлектрические параметры эритроцитов близки к контрольным. Адаптационные возможности же других особей оказались недостаточными, что привело к значительным различиям в значениях диэлектрических параметров в пределах этой группы. Поэтому уменьшение дисперсии и коэффициентов вариации диэлектрических параметров эритроцитов группы кролей, получавших метформин, по отношению к аналогичным параметрам больных животных без коррекции и приближение этих значений к контрольным может свидетельствовать о положительном влиянии метформина на адаптационные возможности кролей при диабете.

К увеличению диэлектрических параметров эритроцитов может привести также

увеличение диэлектрической проницаемости их мембран. В работе [29] было обнаружено, что присутствие глюкозы во внеклеточной среде приводит к увеличению диэлектрической проницаемости мембраны эритроцита, в то время как диэлектрическая проницаемость цитозоля клетки остается неизменной. Увеличение диэлектрической проницаемости мембраны эритроцита зависит от концентрации глюкозы, максимально при концентрации 20 мМ (что соответствует концентрации глюкозы в крови животных при экспериментальном сахарном диабете) и составляет приблизительно 1 единицу ϵ . Механизм влияния глюкозы на диэлектрическую проницаемость мембран эритроцитов не ясен, однако есть предположение, что оно связано с конформационными изменениями мембранного переносчика глюкозы GLUT1 [29, 30]. Последние вызывают цепь реакций, приводящих к модификации пористости мембраны и активности ионных насосов, что приводит к изменению диэлектрической проницаемости мембраны [30]. В работе [31] обнаружено существенное увеличение диэлектрической проницаемости, потерь и проводимости эритроцитов при диабете по сравнению с нормой в интервале частот 40 кГц – 5 МГц, которое авторы объясняют токсическими эффектами глюкозы, приводящими к изменению структуры мембран эритроцитов. В нашем случае, в связи с увеличением концентрации глюкозы в плазме крови при экспериментальном диабете с 6-7 мМ (контроль) до 18-20 мМ (диабет без коррекции), увеличение диэлектрической проницаемости мембран эритроцитов может быть одним из факторов, приводящих к повышению значений ϵ_s эритроцитов кроликов больных диабетом.

Изменение диэлектрической проницаемости мембран эритроцитов может быть также непосредственно связано с различного рода нарушениями в липидном матриксе, имеющими место при данной патологии. Изменения структурно-функциональных свойств эритроцитарных мембран являются одним из звеньев патогенеза сахарного диабета [8]. В работе [32] методом ЭПР-спектроскопии с использованием метода спиновых зондов была выявлена зависимость связывания инсулина с собственными рецепторами от состояния липидов мембран эритроцитов (сопоставлялись связывающие характеристики инсулиновых рецепторов с интегральными показателями структурного свойства липидного матрикса – жидкостностью и экспонированием белков). Основным фактором, приводящим к изменению структурно-функциональных свойств мембран при диабете, является повышение активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) [20, 1]. Продукты ПОЛ, являясь токсичными метаболитами, оказывают повреждающее действие на липопротеиды, белки, ферменты и нуклеиновые кислоты, дестабилизируют мембраны и приводят к деструкции клеток [33]. У больных сахарным диабетом была выявлена четкая взаимосвязь между показателями ПОЛ и системой гомеостаза [33].

Одним из предполагаемых механизмов действия метформина является его способность изменять физико-химические свойства клеточных мембран, в частности, способность восстанавливать текучесть клеточной мембраны, нарушенную в результате индукции гипергликемией процессов неферментативного гликозилирования [34]. Поэтому тенденция к уменьшению диэлектрической проницаемости ϵ' и потерь ϵ'' эритроцитов по сравнению с эритроцитами кролей без коррекции, отсутствие отличий по параметрам ϵ'' и ϵ_s между группой кролей, получавших метформин и группой здоровых животных может свидетельствовать о том, что процессы восстановления текучести мембраны и состояния воды в эритроцитах взаимосвязаны. Поскольку в группе кролей с диабетом, получавших соединение 1408, изменения диэлектрических параметров в направлении контрольных показателей не наблюдается, восстановления состояния воды в эритроцитах не происходит, то можно предположить, что данное

соединение имеет отличный от метформина механизм действия на клетки.

ВЫВОДЫ

При диабете происходит повышение диэлектрических потерь ϵ'' и статической диэлектрической проницаемости ϵ_s эритроцитов кролей, что вероятнее всего обусловлено увеличением в образцах количества свободной воды и уменьшением количества связанной воды. Наблюдается также увеличение в 3-5 раз дисперсий и приблизительно в 2 раза коэффициентов вариации диэлектрических параметров (ϵ' , ϵ'' и ϵ_s) эритроцитов кролей с диабетом без коррекции по сравнению с контролем, что, вероятно, связано с различными индивидуальными способностями организма животных к адаптации в ответ на патологию. Использование соединения 1408 для коррекции диабета не приводит к снижению диэлектрических параметров и показателей дисперсии эритроцитов кролей. При использовании метформина для коррекции диабета наблюдается тенденция к уменьшению средних значений величин ϵ' , ϵ'' и ϵ_s эритроцитов, а также показателей их дисперсии по сравнению с группой кролей с диабетом без коррекции. Это свидетельствует о положительном влиянии метформина, которое подтверждается еще и тем, что группа кролей, получавшая этот препарат, единственная достоверно не отличающаяся от контроля по параметрам ϵ'' и ϵ_s . Полученные в работе результаты подтверждают предположение о том, что изменения соотношения свободной и связанной воды в эритроцитах являются неспецифической реакцией организма в ответ на патологические процессы. Исследование изменения диэлектрических параметров эритроцитов крови не может быть использовано для дифференциальной диагностики заболеваний из-за значительной их дисперсии в пределах одной группы, однако может быть рекомендовано для контроля за течением болезни в отдельном организме и эффективности лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. American Association of Clinical Endocrinologists. Medical Guidelines for Clinical Practice for the Management of Diabetes Mellitus: AACE Diabetes Mellitus Clinical Practice Guidelines Task Force // Endocrine Practice. – 2007. – Vol. 13, Suppl. 1. – P. 3-66.
2. Изменения физико-химических свойств эритроцитов при некоторых онкологических заболеваниях / Т.В. Сviridova, Т.А. Voroncov, B.D. Rjabov, [i dr.] // Pat. fiziol. – 1983. – №6. – S. 3-5.
3. Morfometricheskoe sostojanie jerytrocitov i funkcional'noe sostojanie ih membran u bol'nyh lekarstvennoj bolezni'ju / Je.N. Soloshenko, A.E. Dunaeva, E.M. Mamotjuk, [i dr.] // Eksperimental'na i klinichna medycyna. – 2001. – №3. – S. 67-72.
4. Kolmakov V.N. Opredelenie pronicaemosti jerytrocitarnyh membran v dinamike hronicheskij zabolevanij pecheni / V.N. Kolmakov // V kn. Hronicheskij gepatit i cirroz. – L., 1988. – S. 26-28.
5. Pronicaemost' membran jerytrocitov u bol'nyh s infekcionnoj patologiej / O.I. Kulapina, V.F. Kirichuk, I.A. Utc, [i dr.] // Serija. Kriticheskie tehnologii. Membrany. – 2005. – №1 (25). – S. 3-11.
6. Bolis L. Membranes and disease / L. Bolis, J.F. Hoffman, A. Leaf – N. York, 1980. – 410 p.
7. Babu N. Influence of hyperglycemia on aggregation, deformability and shape parameters of erythrocytes / N. Babu, M. Singh // Clin Hemorheol. Microcirc. – 2004. – Vol. 31, № 4. – P. 273-280.
8. Structural alterations of the erythrocyte membrane proteins in diabetic retinopathy / I.K. Petropoulos, P.I. Margetis, M.H. Antonelou, [et al.] // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. – 2007. – Vol. 245, № 8. – P. 1179-1188.
9. Kagava Ja. Biomembrany / Ja. Kagava – M.: Vysshaja shkola. – 1985. – 303 s.
10. Shamsiev D.F. Reologicheskie svojstva jerytrocitov u bol'nyh s gnojno-vospalitel'nymi zabolevanijami nosa i okolonosovyh pazuh / D.F. Shamsiev // Vestnik otolaringologii. – 2001. – №1. – S. 22-23.
11. Issledovanie gidratatsii membran jerytrocitov do i posle luchevoj terapii / L.V. Batjuk, S.V. Gatash, O.A. Gorobchenko, O.T. Nikolov // Biofizicheskij vestnik. – 2003. – Vyp. 2 (13). – S. 72-78.
12. Aksenov S.I. Voda i ee rol' v reguljatsii biologicheskijh processov / S.I. Aksenov. – Moskva-Izhevsk: Institut komp'juternyh issledovanij, 2004. – 212 s.
13. Trincer K.S. O strukturirovannoju vode, prilagajuweju k poverhnostnomu sloju jerytrocitov. // Sb. Sostojanie i rol' vody v biologicheskijh ob#ektah / K.S. Trincer. – M.: Nauka, 1967. – S. 143-150.

14. Stabiliziruwaja rol' primembrannyh slojov v podderzhanii strukturnoj celostnosti kletocznyh membran / Ja.Ju. Komissarchik, S.V. Levin, B.E. Sviridov, I.Ju. Sabolauskas // *Obwie mehanizmy kletocznyh reakcij na povrezhdajuwee dejstvie*. – L.: Nauka, 1977. – S. 29-31.
15. Hydration forces between phospholipid bilayers / R.P. Rand, V.A. Parsegian // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1989. – Vol. 988, №3. – P. 351-376.
16. Gennis R. Biomembrany: Molekuljarnaja struktura i funkcii / R. Gennis. – M.: Mir, 1997. – 624 s.
17. Schepps J.L., Foster K.R. The UHF and microwave dielectric properties of normal and tumour tissues: variation in dielectric properties with tissue water content / J.L. Schepps, K.R. Foster // *Phys. Med. Biol.* – 1980. V. 25, No 6. – P. 1149-1159.
18. Metod jelektronnogo paramagnitnogo rezonansa dlja kontrolja za sostojaniem uglevodnogo obmena i jeffektivnosti insulinoterapii detej, bol'nyh saharnym diabetov / L.L. Vahrusheva, A.G. Maksina, Ju.A. Knjazev, [i dr.] // *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii*. – 1999. – №3. – S. 49-51.
19. Sostojanie gidratcii plazmy krovi i jeritrocitov u beremennyh s neoslozhnennym gestacionnym processom i anemiej / I.I. Nikiforovich, A.N. Ivanjan, A.V. Litvinov, [i dr.] // *Rossijskij vestnik akushera-ginekologa*. – 2009. – № 2. – S. 4-7.
20. Poltorak V.V., Gorbenko N.Y. Eksperimental'ne vyvchennja novyh gipoglikemichnyh zasobiv: metod. rekomendacii' / V.V. Poltorak, N.Y. Gorbenko // *Doklinichni doslidzhennja likars'kyh zasobiv*. – K.: 2001. – S. 396-408.
21. Nikolov O.T. Izmerenie kompleksnoj dijelektricheskoj pronicaemosti zhidkih dijelektrikov s bol'shimi poterjami / O.T. Nikolov, T.A. Zhiljakova // *Zhurnal fizicheskoj himii*. – 1991. – T. 65, №5. – S. 1312-1316.
22. Jenin Pierre C. Some observations on the dielectric properties of hemoglobin's suspending medium inside human erythrocytes / Pierre C. Jenin, H.P. Schwan // *Biophys. J.* – 1980. – V. 3. – P. 285-294.
23. Debaj P. Poljarnyje molekuly / P. Debaj – M-L.: 1931. – 245 s.
24. Suzuki M. Hydration Study of Proteins in Solution by Microwave Dielectric Analysys / M. Suzuki, J. Shigematsu, T. Kodama // *J. Phys. Chem.* – 1996. – V. 100. – P. 7279-7282.
25. Levin R.L. Effect of hydration on the water content of human erythrocytes / R.L. Levin, E.G. Cravalho, C.E. Huggin // *Biophys. J.* – 1976. – V.16. – P. 1411-1426.
26. Mashimo S. Dielectric relaxation time and structure of bound water in biological materials / S. Mashimo, Sh. Kuwabara // *J. Phys. Chem.* – 1987. – V. 91, No 25. – P. 6337-6338.
27. Charakteristiki izmenenij v krovi ryb pod dejstviem himicheskogo zagrijaznenija sredy po dannym nizkotemperaturnoj 1N-JaMR-spektroskopii / A.S. Gorjunov, G.A. Suhanova, A.G. Borisova, V.S. Sidorov // *Biopolimery i kletka*. – 1996. – T. 12, №6. – S. 1-5.
28. Rozhkov S.P. Trehkomponentnaja sistema voda-biopolimer – iony kak model' molekuljarnyh mehanizmov osmoticheskogo gomeostaza / S.P. Rozhkov // *Biofizika*. – 2001. – T. 46, № 1. – S. 53-59.
29. DiBiasio A. D-glucose-induced alteration in the electrical parameters of human erythrocyte cell membrane / A. DiBiasio, C. Cametti // *Bioelectrochemistry*. – 2010. – V. 77. – P. 151-157.
30. Dielectric spectroscopy study of specific glucose influence on human erythrocyte membranes / Y. Hayashi, L. Livshits, A. Caduff, Y. Feldman // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2003. – V. 36. – P. 369–374.
31. Desouky O.S. Rheological and electrical behavior of erythrocytes in patients with diabetes mellitus / O.S. Desouky // *Romanian J. Biophys.* - 2009. – Vol. 19, No. 4. – P. 239–250.
32. Sostojanie citoplazmaticheskikh membran pri jeksperimental'nom saharnom diabete / N.P. Mikajeljan, Ju.A. Knjazev, A.E. Gurina, [i dr.] // *Saharnyj diabet*. – 1999. – № 3 (4). – S. 48-51.
33. Balabolkin M.I. Rol' okislitel'nogo stressa v patogeneze sosudistyh oslozhnenij saharnogo diabeta i primenenie vitaminov i mikrojelementov dlja ih lechenija i profilaktiki / M.I. Balabolkin // *Klinicheskaja jendokrinologija*. – 2006. - № 6. – S. 1-7.
34. Gorbenko N.I., Gorshunskaja M.Ju. Metformin – sredstva vybora dlja preduprezhdenija i umen'shenija vyrashennosti serdechno-sosudistoj patologii u bol'nyh saharnym diabetom 2-go tipa / N.I. Gorbenko, M.Ju. Gorshunskaja // *Ukrai'ns'kyj medychnyj chasopys*. – 2005. – № 4 (48). – S. 29-36.