

УДК 577.356

**ВЛИЯНИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА НА ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ  
ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС****Т.А. Шаталова<sup>1</sup>, О.А. Горобченко<sup>1</sup>, Т.Н. Овсянникова<sup>1</sup>, А.И. Гладких<sup>2</sup>, О.Т.  
Николов<sup>1</sup>, С.В. Гаташ<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы 4, Харьков 61022, Украина;<sup>2</sup>Институт проблем эндокринной патологии имени В.Я. Данилевского АМН Украины, ул. Артема 10,

Харьков 61002, Украина.

e-mail: shatalova\_ta@mail.ru

Поступила в редакцию 2 июня 2011

Принята 12 июля 2011

В работе представлены результаты исследования влияния модельного сахарного диабета 2 типа и сахароснижающих препаратов на диэлектрические параметры суспензий эритроцитов крыс методом СВЧ-диэлектрометрии на рабочей частоте 9,2 ГГц. Обнаружена тенденция к увеличению средних значений действительной и мнимой составляющих комплексной диэлектрической проницаемости суспензий эритроцитов крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа, а также изменение данных показателей на фоне применения различных препаратов. Дисперсия значений действительной части комплексной диэлектрической проницаемости суспензий эритроцитов группы крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа достоверно больше, чем дисперсия значений соответствующего параметра контрольной группы крыс. Это может быть обусловлено различным характером изменения соотношения свободная/связанная вода в эритроцитах у разных животных, т.е. различным ответом отдельного организма на патологию на уровне клетки. Во всех группах животных с модельным сахарным диабетом, как с коррекцией, так и без,  $\epsilon'$  является более вариабельным параметром, чем  $\epsilon''$ , что позволяет сделать вывод о большей чувствительности  $\epsilon'$  к патологическим изменениям, происходящим в клетках. Метод СВЧ-диэлектрометрии на рабочей частоте 9,2 ГГц является перспективным методом интегральной оценки структурных изменений свойств воды на границе раздела сред эритроцит-вода, и может быть рекомендован для отслеживания динамики изменения состояния эритроцитов пациентов в процессе лечения.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** диэлектрическая проницаемость, эритроциты, мембраны эритроцитов, сахарный диабет 2 типа.

**ВПЛИВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ НА ДІЕЛЕКТРИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ  
ЕРИТРОЦИТІВ ЩУРІВ****Т.А. Шаталова<sup>1</sup>, О.А. Горобченко<sup>1</sup>, Т.Н. Овсяннікова<sup>1</sup>, А.І. Гладких<sup>2</sup>, О.Т. Ніколов<sup>1</sup>,  
С.В. Гаташ<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, пл. Свободи 4, Харків 61022, Україна;<sup>2</sup>Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я. Данилевського АМН України, вул. Артема 10, Харків 61002, Україна.

У роботі представлені результати дослідження впливу модельного цукрового діабету 2 типу та цукрознижуючих препаратів на діелектричні параметри суспензій еритроцитів щурів методом НВЧ-діелектрометрії на робочій частоті 9,2 ГГц. Виявлена тенденція до збільшення середніх значень дійсної та уявної складових комплексної діелектричної проникності суспензій еритроцитів щурів з експериментальним цукровим діабетом 2 типу, а також зміна цих показників на фоні застосування різних препаратів. Дисперсія значень дійсної частини комплексної діелектричної проникності суспензій еритроцитів групи щурів з експериментальним цукровим діабетом 2 типу достовірно більше, ніж дисперсія значень відповідного параметра контрольної групи щурів. Це може бути обумовлено різним характером зміни співвідношення вільна/зв'язана вода в еритроцитах у різних тварин, тобто різною відповіддю організму на патологію на рівні клітини. У всіх групах тварин з модельним цукровим діабетом, як із корекцією, так і без,  $\epsilon'$  є більш вариабельним параметром, ніж  $\epsilon''$ , що дозволяє зробити висновок про більшу чутливість  $\epsilon'$  до патологічних змін, які відбуваються в клітинах. Метод НВЧ-діелектрометрії на робочій частоті 9,2 ГГц є перспективним методом інтегральної оцінки структурних змін властивостей води на межі

розділу середовищ еритроцит-вода, і може бути рекомендований для відстеження динаміки зміни стану еритроцитів пацієнтів у процесі лікування.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** діелектрична проникність, еритроцити, мембрани еритроцитів, цукровий діабет 2 типу.

## INFLUENCE OF TYPE 2 DIEBETES ON DIELECTRIC CHARACTERISTICS OF RAT ERYTHROCYTES

T.A. Shatalova<sup>1</sup>, O.A. Gorobchenko<sup>1</sup>, T.N. Ovsyannikova<sup>1</sup>, A.I. Gladkih<sup>2</sup>, O.T. Nikolov<sup>1</sup>, S.V. Gatash<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>*Kharkiv Karazin National University, 4, Svobody Square, 61022 Kharkiv, Ukraine*

<sup>2</sup>*V.Y. Danilevskiy Institute of Endocrine Pathology, Ukrainian Academy of Medical Sciences, 10, Artema Street, 61002 Kharkiv, Ukraine.*

The paper deal with the results of investigation of the type 2 model diabetes and sugar-reducing drugs influence on the dielectric parameters of erythrocyte suspensions in rats by microwave dielectrometry at the operating frequency 9,2 GHz. A tendency towards the increase in the average values of real and imaginary components of complex permittivity in red blood cells suspensions of rats with experimental type 2 diabetes has been researched, as well as the changes in these parameters during the treatment with various drugs. The dispersion of the values of the real part of complex dielectric permittivity of suspensions of red blood cells of rats with experimental type 2 diabetes is significantly greater than the variance of the values of the corresponding parameter of the control group. This may be stipulated by the different character of changes in the ratio free/bound water in the erythrocytes of different animals, i.e., different response of the individual organism on pathology at the cellular level. In all groups of the animals with model diabetes, both corrected and uncorrected,  $\epsilon'$  is a more variable parameter than  $\epsilon''$ , which suggests a greater sensitivity of  $\epsilon'$  to pathological changes that occur in cells. The method of microwave dielectrometry at the operating frequency 9,2 GHz is a promising method for integrated assessment of the structural changes of water properties in the interface erythrocyte-water, and can be recommended to monitor the dynamics of the erythrocytes state of patients in the course of treatment.

**KEYWORDSs:** permeability, erythrocytes, erythrocyte membranes, type 2 diabetes.

Сахарный диабет 2 типа (СД 2) – хроническое заболевание, проявляющееся нарушением углеводного обмена с развитием гипергликемии вследствие инсулинорезистентности и глюко- и липотоксичности. Одним из перспективных путей решения проблемы ранней диагностики и улучшения качества жизни больных сахарным диабетом является исследование физико-химических и физиологических характеристик компонент периферической крови [1,2]. Поскольку основные патологические изменения, имеющие место при сахарном диабете, происходят на уровне клетки, в том числе на уровне клеточной мембраны, эритроциты крови можно использовать в качестве индикатора влияния патологии и лекарственных препаратов на организм в целом. Являясь высокоспециализированными клетками, эритроциты претерпевают серьезные изменения структуры и функций при сахарном диабете, что может быть использовано для его ранней диагностики [2,3] и контроля эффективности лечения.

Общеизвестно, что вода играет важную роль в функционировании биологических систем, которые на 75-90% состоят из воды и лишь 10-25% приходится на долю макромолекул [4,5]. Поскольку содержимое эритроцитов представляет собой жидкую гидрофильную систему (вода составляет 65% его массы) [2], структурные перестройки их мембран, изменение физико-химических характеристик клеток и характера межклеточных взаимодействий влекут за собой изменение структуры внутриклеточной и окружающей эритроциты воды. Это сказывается на релаксационных характеристиках молекул воды и соотношении свободная/связанная вода в клетке и, как следствие, приводит к изменению диэлектрических параметров клеток в области частотной дисперсии воды (СВЧ диапазон). Последние могут быть зарегистрированы методом СВЧ-диэлектрметрии, что позволяет использовать измерения диэлектрической проницаемости биологических объектов на СВЧ-частотах как физический критерий

при оценке структурных нарушений клеток, вызванных различными факторами. Попытки использовать изменение структурного состояния воды цельной крови и ее компонент при патологии с целью диагностики неоднократно предпринимались методами диэлектрической спектроскопии [6, 7, 8] и ЯМР- $^1\text{H}$ -релаксации [9, 10]. Тем не менее, до настоящего времени отсутствуют рекомендации по их использованию в клинике.

Целью данной работы являлось исследование диэлектрических параметров суспензий эритроцитов крыс с модельным сахарным диабетом 2 типа при действии сахароснижающих препаратов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте изучалось влияние лекарственных препаратов на диэлектрические параметры суспензий эритроцитов контрольных крыс (5 особей) и крыс с экспериментальным СД 2, вызванным введением дексаметазона на фоне диеты с увеличенным количеством жиров в рационе (32 особи). Исследования проводились в соответствии с национальными Общеэтическими принципами экспериментов на животных, что согласуется с положениями Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.).

Диэлектрические параметры исследуемых образцов измеряли методом СВЧ-диэлектрметрии на рабочей частоте 9,2 ГГц [11]. Для измерения  $\epsilon'$  исследуемый образец набирали в капилляр, помещали в резонатор и фиксировали сдвиг резонансной частоты между собственной частотой резонатора и резонатора с образцом. Погрешность полученных значений  $\epsilon'$  не превышала  $\pm 0,2$ , для  $\epsilon''$  погрешность не превышала  $\pm 0,5$ . Температура образцов в капилляре измерялась с помощью медь-константановой термопары с точностью  $\pm 0,05^\circ\text{C}$  и составляла  $20,00^\circ\text{C}$ . Для приготовления образцов суспензий эритроцитов из венозной крови крыс, стабилизированной гепарином, выделяли эритроциты и отмывали их натрий-фосфатным буфером с  $\text{pH}=7,4$  затем разбавляли их в соотношении 1:1 физиологическим раствором.

Все экспериментальные животные были разделены на 6 групп: 1-я группа - контроль (интактные крысы) (6 особей); 2-я – крысы с модельным СД 2, получавшие плацебо (7 особей); 3-я – крысы с модельным СД 2, получавшие новое перспективное вещество с сахароснижающим действием (7 особей); 4-я - крысы с модельным СД 2, получавшие экстракт из мидий (7 особей); 5-я - крысы с модельным СД 2, получавшие новое перспективное вещество с сахароснижающим действием в виде липосомального экстракта (5 особей); 6-я – крысы с модельным СД 2, получавшие сахароснижающий препарат первого эшелона - метформин (5 особей).

Полученные данные были статистически обработаны в программе OriginPro8. Проверку на нормальность распределения проводили при помощи теста Шапиро-Уилка, который можно использовать для малочисленных выборок [12]. Проверку однородности (равенства) групповых дисперсий проводили с использованием М-критерия Бартлетта [13], который может использоваться в случае неравного объема выборок. Проверку гипотезы о равенстве средних значений диэлектрических параметров исследуемых групп осуществляли при помощи дисперсионного анализа и критерия Уэлча [14] при пороговом уровне значимости  $\alpha=0,01$ . При вычислении доверительного интервала для среднего использовали критическое значение  $t$  (Стьюдента) для уровня значимости  $\alpha=0,05$  и числа степеней свободы  $\nu=n-1$  ( $n$  – объем выборки).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1А и 1Б, а также в таблице 1 представлены характеристики распределений действительной ( $\epsilon'$ ) и мнимой ( $\epsilon''$ ) частей комплексной диэлектрической проницаемости суспензий эритроцитов крыс с СД 2, получавших плацебо; крыс с СД 2, получавших различные сахароснижающие препараты и аналогичные показатели для крыс контрольной группы. На рис. 1А и рис. 1Б приведены средние значения (отмечены символом  $\square$ ), стандартные отклонения (отрезки, концы которых расположены вне прямоугольника), диапазон, в котором заключены 50% всех наблюдений (прямоугольник), медиана (горизонтальный отрезок, соединяющий противоположные стороны прямоугольника), максимальное и минимальное значения (отмечены символом  $*$ ) действительной и мнимой частей комплексной диэлектрической проницаемости для исследуемых групп.

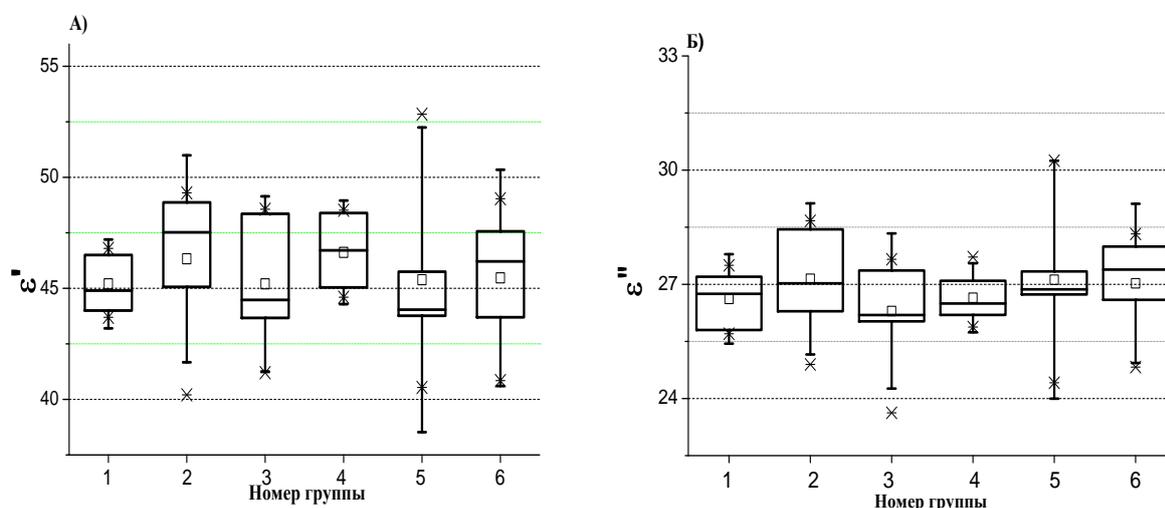


Рис. 1. Значения действительной (А) и мнимой (Б) части комплексной диэлектрической проницаемости суспензий эритроцитов крыс при температуре 20,00°C (1-я группа – контроль; 2-я – плацебо; 3-я – крысы с СД 2, получавшие новое перспективное вещество с сахароснижающим действием; 4-я – крысы с СД 2, получавшие экстракт из мидий; 5-я – крысы с СД 2, получавшие новое перспективное вещество с сахароснижающим действием в виде липосомального экстракта; 6-я – крысы с СД 2, получавшие метформин).

Известно, что обязательными условиями применимости дисперсионного анализа являются нормальность распределения и равенство дисперсий исследуемого параметра в анализируемых выборках. Согласно критерию Шапиро-Уилка распределение диэлектрических параметров для каждой группы животных соответствовало нормальному закону в соответствии с уровнем значимости  $p < 0,05$ . Однако согласно М-критерию Бартлетта при заданных степенях свободы [13], гипотезу о равенстве дисперсий как в случае  $\epsilon'$ , так и  $\epsilon''$ , в соответствии с уровнем значимости  $\alpha = 0,01$  следует отвергнуть. Неравенство дисперсий может существенно повлиять на вероятность ошибки первого рода F-критерия в дисперсионном анализе, особенно при неравных объемах выборок [15]. Поэтому наряду с дисперсионным анализом был использован тест Уэлча для проверки равенства средних, который не требует равенства дисперсий [14].

Дисперсионный анализ показал, что нулевая гипотеза о равенстве средних не может быть отвергнута ( $p > 0,92$  для  $\epsilon'$  и  $p > 0,82$  для  $\epsilon''$ ). Аналогичный результат был получен и по тесту Уэлча,  $p > 0,05$ . Однако мощность дисперсионного анализа оказалась

низкой (11%), мощность критерия Уэлча еще ниже [14]. Как известно, мощность критерия определяется такими факторами как величина различий, разброс данных, объем выборки. Наиболее важен объем выборок: чем он больше, тем чувствительней критерий. Однако в нашем случае низкая мощность определяется малым отношением величины различий к стандартному отклонению. При таком отношении чтобы повысить мощность критерия хотя бы до 53% необходимо увеличить суммарный объем выборок с 37 до 200, т.е. в каждую из групп должно входить не менее 30 особей. Таким образом, следует заключить, что на основании дисперсионного анализа и теста Уэлча никакие выводы о влиянии патологии и различных сахароснижающих веществ на средние значения диэлектрических параметров суспензий эритроцитов не могут быть сделаны.

Таблица 1. Характеристики распределений действительной ( $\epsilon'$ ) и мнимой ( $\epsilon''$ ) частей комплексной диэлектрической проницаемости суспензий эритроцитов в группах крыс с СД 2 при температуре 20°C.

Группа	Показатель	Среднее	Доверительный интервал при $\alpha=0,05$	Дисперсия	Коэфф. вариации	Объем выборки
1. Контроль	$\epsilon'$	45.4	$\pm 3.3$	1.8	3.0 %	6
	$\epsilon''$	26.6	$\pm 1.9$	0.6	3.0 %	6
2. СД 2, плацебо	$\epsilon'$	46.3	$\pm 7.3$	9.6	6.7 %	7
	$\epsilon''$	27.1	$\pm 3.1$	1.7	4.9 %	7
3. СД 2, перспективное вещество	$\epsilon'$	45.2	$\pm 6.2$	6.9	5.8 %	7
	$\epsilon''$	26.3	$\pm 3.2$	1.8	5.2 %	7
4. СД 2, экстракт из мидий	$\epsilon'$	46.6	$\pm 3.7$	2.4	3.3 %	7
	$\epsilon''$	26.6	$\pm 1.4$	0.4	2.3 %	7
5. СД 2, перспективное вещество в виде липосомального экстракта	$\epsilon'$	45.4	$\pm 11.8$	20.9	10.1 %	5
	$\epsilon''$	27.1	$\pm 5.4$	4.3	7.7 %	5
6. СД 2, метформин	$\epsilon'$	45.5	$\pm 8.3$	10.5	7.1 %	5
	$\epsilon''$	27.0	$\pm 3.6$	1.9	5.2 %	5

Сравнение дисперсий групп (таблица 1) показывает, что они соотносятся между собой примерно как 1:5:4:1:12:6 для  $\epsilon'$  и 1:3:3:0,6:7:3 для  $\epsilon''$  т.е. в группах диабетических животных (кроме 4 группы) дисперсии исследуемых параметров в несколько раз превышают контрольные. Сравнение дисперсий значений  $\epsilon'$  контрольной группы крыс и групп крыс с СД 2 с помощью критерия Фишера F показало, что дисперсия значений  $\epsilon'$  в контрольной группе крыс достоверно меньше дисперсии значений в группах крыс с экспериментальным СД 2. Наименее вариабельны диэлектрические параметры, как  $\epsilon'$  так и  $\epsilon''$ , в контрольной группе, причём коэффициенты вариации для  $\epsilon'$  и  $\epsilon''$  совпадают и составляют 3%. Сопоставление коэффициентов вариации одного и того же параметра в разных группах указывает на

увеличение вариабельности  $\epsilon'$  в группе животных с диабетом без коррекции (группа 2) почти на 4% (более чем в 2 раза), а  $\epsilon''$  почти на 2%, по сравнению с контролем. Только в случае применения экстракта из мидий коэффициенты вариации наиболее близки к контрольным. Наибольшие коэффициенты вариации наблюдаются в группе крыс получавших новое перспективное вещество в виде липосомального экстракта. Следует отметить, что во всех группах животных с СД 2, как с коррекцией, так и без неё,  $\epsilon'$  является более вариабельным параметром, чем  $\epsilon''$ , что позволяет сделать вывод о большей чувствительности  $\epsilon'$  к патологическим изменениям, происходящим в клетках. Средняя квадратичная погрешность коэффициентов вариации как для  $\epsilon'$ , так и для  $\epsilon''$  не превышала 0,1.

Как уже отмечалось выше, достоверных отличий в изменении средних значений диэлектрических параметров, или информации об отсутствии таких изменений получено не было, поэтому можно обсуждать только тенденции к изменению средних значений. Из рисунка 1А и таблицы 1 можно заключить, что средние значения  $\epsilon'$  суспензий эритроцитов крыс, получающих новое перспективное вещество и крыс, получающих метформин, наиболее близки к контрольным. Медиана и среднее значение  $\epsilon'$  суспензий эритроцитов крыс, получающих плацебо, и крыс, получающих экстракт из мидий, имеют тенденцию к увеличению по сравнению с соответствующими показателями контрольной группы крыс. Из рис. 1Б видно, что значения  $\epsilon''$  суспензий эритроцитов крыс с СД 2, получавших плацебо и крыс, получавших препараты, в пределах погрешности совпадают, однако, медиана и среднее значение  $\epsilon''$  у крыс шестой группы (получавших метформин), имеют тенденцию к увеличению по сравнению с  $\epsilon''$  в остальных группах крыс на фоне коррекции. Это может свидетельствовать об имеющей место дегидратации мембран эритроцитов, которая может быть обусловлена активизацией перекисного окисления липидов (ПОЛ) [16]. Вследствие повышения активности ПОЛ происходит нарушение липидного спектра мембран эритроцитов (снижение содержания общих липидов и фракции фосфатидилхолина (ФХ) при повышении уровня фракций лизофосфатидилхолина и фосфатидилинозитола; увеличение соотношения насыщенных/ненасыщенных жирных кислот во фракциях ФХ и фосфатидилэтаноламина; повышение микровязкости глубоких и модификация наружных слоёв мембран эритроцитов) [17].

Наблюдаемые изменения диэлектрических параметров суспензий эритроцитов могут быть результатом влияния трех факторов: изменения количества свободной воды в образцах, которая вносит основной вклад в величину диэлектрической проницаемости и потерь на частоте 9,2 ГГц, изменения частоты диэлектрической релаксации молекул свободной воды (частоты дебаевской релаксации) в образцах, а также их электропроводности. О вкладе первого фактора можно судить по одностороннему изменению диэлектрической проницаемости  $\epsilon'$  и диэлектрических потерь  $\epsilon''_D = \epsilon'' - \epsilon''_\sigma$ , где  $\epsilon''$  общие (измеренные) диэлектрические потери,  $\epsilon''_D$  - диэлектрические (поляризационные) потери, обусловленные процессом дипольной релаксации молекул воды,  $\epsilon''_\sigma$  - потери на низкочастотную проводимость, связанные с присутствием в образце неорганических ионов. Потери на проводимость пропорциональны удельной электропроводности  $\sigma$  образца:  $\epsilon''_\sigma = \frac{\sigma}{\epsilon_0 \cdot \omega}$  [18], где  $\epsilon_0$  -

электрическая постоянная,  $\omega$  - круговая частота. В данной работе измерения удельной электропроводности образцов проведено не было. Однако известно, что при диабете происходит увеличение электрического сопротивления (а, следовательно, уменьшение электропроводности) как гепаринизированной крови, так и эритроцитов [19]. Поэтому в

нашем случае следует ожидать большего вклада потерь на проводимость в общие потери в группе 1 (контроль) по сравнению с группой 2 (диабет).

Сопоставляя между собой результаты, представленные на рис. 1А и 1Б, можно отметить тенденцию к увеличению, как медиан, так и средних значений  $\epsilon'$  и  $\epsilon''$  в группе животных с диабетом без коррекции по сравнению с контролем. Учет вклада потерь на проводимость в значения  $\epsilon''$  и сопоставление средних значений диэлектрических потерь  $\epsilon''_D$  суспензий эритроцитов групп 1 и 2, позволили бы получить еще большие отличия между этими группами по данному показателю. Таким образом, на основании указанных изменений диэлектрической проницаемости  $\epsilon'$  и диэлектрических потерь  $\epsilon''$  можно сделать вывод о тенденции к увеличению в эритроцитах количества свободной воды при диабете. Аналогичная тенденция была зафиксирована для эритроцитов крыс с экспериментальным стрептозотоциновым диабетом [20]. Увеличение количества свободной воды в эритроцитах может быть следствием повреждения мембран активными формами кислорода в местах наибольшей активности ПОЛ и возникновения каналов пассивной проницаемости (гидрофильных зон в гидрофобном слое мембран) за счёт образования гидропероксидов жирных кислот [21, 22]. Через эти каналы в клетки могут проникать вода, ионы натрия, кальция, что приводит к набуханию клеток, органелл и их разрушению [22]. Движение воды в клетку при этом может происходить за счет избыточного осмотического давления, которое поддерживают в клетке макромолекулы цитоплазмы, для которых мембрана остается непроницаемой [23].

Тем не менее, несмотря на отмечаемые тенденции, диэлектрические параметры эритроцитов отдельного животного при СД 2 могут существенно выходить за пределы нормы, как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения. Это может свидетельствовать о протекании процессов, вносящих противоположный вклад в диэлектрическую проницаемость эритроцитов. Например, диэлектрические параметры клеток зависят от диэлектрической проницаемости их мембран, и, в частности, степени их гидратации. В литературе имеются данные об увеличении гидратации поверхности клеток под влиянием продуктов ПОЛ [24]. Однако гидратация клеток может уменьшаться и вследствие увеличения гидрофобности мембран. Так, в работе [25] отмечается тенденция к повышению параметра гидрофобности мембран эритроцитов у детей и подростков, больных сахарным диабетом, обнаруженная методом ЭПР (электронный парамагнитный резонанс) с использованием спиновых зондов. Из литературных источников известно, что вода участвует в организации пространственной структуры биологических мембран, что существенно влияет на изменение функциональности биологических процессов происходящих в клетке. Изменение гидратации мембран существенным образом меняет равновесие сил в пределах тройной системы белок-липид-вода, тем самым вызывая ее глубокую перестройку. В результате чего меняется лабильность всей системы в целом и ее способность к выполнению своих биологических функций, что влечет за собой изменение основных механизмов регуляции метаболических реакций в клетке [5]. Кроме того, при диабете было обнаружено увеличение микровязкости липидов в мембранах эритроцитов [26] и нарушение их липидного спектра, что также может отразиться на величине диэлектрической проницаемости клетки. На изменение диэлектрических параметров эритроцитов при диабете может влиять изменение параметра экспонирования белков на поверхность мембраны, снижение поверхностного заряда эритроцитарной мембраны [27], изменение формы эритроцитов (повышение индекса сферичности) [28] и повышенная агрегация эритроцитов [29]. Так, было обнаружено достоверное ( $p < 0,001$ ) снижение параметра экспонирования белков

на мембране эритроцитов у детей, больных инсулинзависимым сахарным диабетом [25]. Однако имеются данные и о повышении данного показателя у крыс с экспериментальной моделью аллоксанового диабета [27]. Каждый из этих процессов вносит собственный вклад в изменение диэлектрических параметров эритроцитов в ту или иную сторону, процессы могут компенсировать друг друга, и в конечном итоге измеренные значения могут и не выходить за пределы физиологической нормы. Однако в зависимости от индивидуальных особенностей течения болезни и соответствующих изменений на молекулярно-клеточном уровне те или иные патологические процессы могут преобладать и тем самым определять отклонение диэлектрических параметров в ту или иную сторону. Наблюдаемое в нашем эксперименте существенное (в несколько раз) увеличение коэффициентов вариации диэлектрической проницаемости в группе крыс с модельным СД 2 может быть объяснено индивидуальным характером формирования модельного СД, обусловленным преобладанием тех или иных патологических процессов в отдельном организме, в то время как в группе контрольных животных разброс диэлектрических параметров не превышает 3%, что свидетельствует о более или менее сходном характере протекания физико-химических процессов на молекулярно-клеточном уровне.

Таким образом, на основании снижения дисперсий  $\epsilon'$  и  $\epsilon''$  суспензий эритроцитов групп крыс, получавших сахароснижающие вещества, можно заключить о нормализации физико-химических процессов на молекулярно-клеточном уровне и положительном влиянии лекарственного препарата на организм. Заметное уменьшение дисперсий параметров  $\epsilon'$  и  $\epsilon''$  суспензий эритроцитов, как уже отмечалось выше, наблюдается только в группе 4, получавшей экстракт из мидий. Наблюдаемый эффект, возможно, связан с восстановлением гидратации эритроцитарных мембран или нормализацией процессов ПОЛ на фоне коррекции, так как белково-углеводный концентрат из мидий, обладая иммунокорректирующим, антисклеротическим, антиоксидантным действиями, оказывает благоприятное влияние на динамику нейрофизиологических параметров при экспериментальном сахарном диабете [29]. В работе [30] показано, что в экспериментах *in vivo* на крысах линии Wistar экстракт из мидий проявлял мембранно-протекторные, гепатопротекторные, радиозащитные, противоопухолевые, сахароснижающие свойства. Было установлено антиоксидантное действие биополимеров, проявлявшееся в активации естественной антиоксидантной ферментативной системы клеток печени, влияние на метаболические процессы клеток печени, выражающееся в увеличении скорости синтеза АТФ митохондриями.

Таким образом, в результате исследования было выявлено, что среднее значение диэлектрической проницаемости  $\epsilon'$  и  $\epsilon''$  в группе крыс с экспериментальным сахарным диабетом имеет тенденцию к увеличению по сравнению со средними значениями  $\epsilon'$  и  $\epsilon''$  контрольной группы крыс, что свидетельствует о возможном увеличении в образце количества свободной воды, обусловленном патологией, за счет дегидратации клеточных мембран. Средние значения  $\epsilon'$  суспензии эритроцитов крыс, получавших новое перспективное вещество, и крыс, получавших метформин, наиболее близки к соответствующему показателю крыс контрольной группы. Это может свидетельствовать о восстановлении гидратации мембран на фоне медикаментозной коррекции СД и о возможном положительном эффекте получаемого препарата. Поскольку гидратная вода принимает участие во внутриклеточных процессах на уровне ультраструктуры и молекулярной организации клетки, облегчая перенос свободных радикалов и протонов в биохимических реакциях [5], а также в процессах транспорта веществ внутри клетки и через клеточную мембрану [31], восстановление гидратации мембран может способствовать восстановлению способности мембран выполнять свои

биологические функции. Известно, что лечебный эффект метформина обусловлен усилением связывания инсулина с рецепторами в эритроцитах, что увеличивает скорость поступления глюкозы в клетку [21, 32, 33]. Можно предположить, что механизм этого усиления связан с восстановлением гидратации мембран эритроцитов, поскольку вода оказывает регуляторное воздействие на процессы функционирования белковых макромолекул и мембранных структур, а также играет общерегуляторную роль на уровне клетки в целом.

### ВЫВОДЫ

1. Дисперсия значений  $\epsilon'$  суспензий эритроцитов крыс с экспериментальным СД 2 достоверно больше, чем дисперсия значений  $\epsilon'$  контрольной группы крыс. Обнаружена тенденция к увеличению как медиан, так и средних значений  $\epsilon'$  и  $\epsilon''$  в группе животных с диабетом и не получавших сахароснижающих веществ по сравнению с контрольными крысами, что может свидетельствовать о дегидратации мембран.

2. Дисперсия значений  $\epsilon'$  и  $\epsilon''$  суспензий эритроцитов крыс, получавших экстракт из мидий, и дисперсия значений  $\epsilon'$  и  $\epsilon''$  крыс контрольной группы наименьшая, что может свидетельствовать о возможном положительном влиянии препарата. Однако среднее значение  $\epsilon'$  совокупности имеет тенденцию к увеличению по сравнению с соответствующими параметрами контрольной группы крыс, из чего можно сделать вывод, что если соответствующий препарат и дает эффект, то очень незначительный.

3. Среднее значение  $\epsilon'$  суспензии эритроцитов крыс, получавших новое перспективное вещество с сахароснижающим эффектом, и крыс, получавших метформин, близки к соответствующему показателю контрольной группы, что может свидетельствовать о восстановлении гидратации эритроцитарных мембран, нормализации процессов ПОЛ на фоне коррекции и о возможном положительном эффекте получаемого препарата.

4. Метод СВЧ-диэлектрметрии на рабочей частоте 9,2 ГГц является перспективным методом интегральной оценки структурных изменений (свойств) воды на границе раздела сред эритроцит-вода в биологических объектах в норме и при патологии. Однако, ввиду того, что вклад индивидуальных особенностей организма в общую дисперсию диэлектрических параметров в группе превышает эффект, связанный с патологией, метод не может быть использован для дифференциальной диагностики отдельных видов заболеваний. Тем не менее, с помощью этого метода можно отслеживать динамику изменения состояния эритроцитов в процессе лечения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Galenok V. A. Kislородno-transportnaja sistema krovi i kislородnyj balans tkanej na rannih stadijah saharnogo diabeta / V. A. Galenok, V. E. Dikker, E. V. Gostinskaja, L. M. Zobin // *Terapevt. arhiv.*— 1981.— Т. 53, № 11.— S. 115–118.
2. Rjzanova I. I. Funkcional'naja struktura jeritrocita v norme i pri patologii / I. I. Rjzanova // *Jeksperiment. me-dicina.*— 2001.— № 6.— S. 42–45.
3. Mikaeljan N. P. Sostojanie membran jeritrocitov pri saharnom diabete / N. P. Mikaeljan, A. G. Maksina, Ju. A. Knjazev // *Laborat. delo.*— 1991.— № 9.— S. 41–44.
4. Aksenov S. I. Svjazannaja voda v dispersnyh sistemah / S. I. Aksenov // *Sostojanie vody v biologicheskikh sistemah.*— 1980.— № 57.— S. 46–74.
5. Kargapolov A. V. Sostojanija vody v biologicheskikh sistemah / A. V. Kargapolov, G. M. Zubareva // *Sbornik nauchnyh rabot sotrudnikov Tverskoj medicinskoj akademii «Ispol'zovanie IK-spektroskopii v medicine, jekologii i farmacii».*— Tver', 2003.— S. 63–67.
6. Egot-Lemaire S. Dielectric spectroscopy of normal and malignant human lung cells at ultra-high frequencies / S. Egot-Lemaire, J. Pijanka, J. Sule-Suso [et al.] // *Phys. Med. Biol.*— 2009.— Vol. 54.— P. 2341–2357.

7. Chaudhary S. S. Dielectric properties of normal & malignant human breast tissues at radiowave & microwave frequencies / S. S. Chaudhary, R. K. Mishra, A. Swarup, J. M. Thomas // *Indian J. Biochem. Biophys.*— 1984.— Vol. 21.— P. 76–79.
8. Bonincontro A. Microwave dielectric properties of normal and homozygous beta-thalassemic erythrocytes / A. Bonincontro, C. Cametti, A. Di Biasio [et al.] // *Phys. Med. Biol.*— 1983.— Vol. 28.— P. 853–860.
9. Zefirova T. P. Jadernaja magnitnaja relaksacija vodnyh rastvorov belkov, plazmy, jeritrocitov i krovi / T. P. Zefirova, A. N. Glebov, Je. N. Gur'ev [i dr.] // *Bjul. jeksperim. biologii i mediciny.*— 1991.— № 10.— S. 17–19.
10. Bajkeev R. F. Izmerenie vremeni JaMR-N-relaksacii syvorotki krovi kak metod laboratornoj diagnostiki / R. F. Bajkeev, V. R. Hajrullina, F. M. Mazitova // *Laborat. delo.*— 1990.— № 12.— S. 17–19.
11. Nikolov O. T. Izmerenie kompleksnoj dijelektricheskoj pronicaemosti zhidkih dijelektrikov s bol'shimi poterjami / O. T. Nikolov, T. A. Zhiljakova // *ZhFH.*— 1991.— T. 65, № 5.— S. 1312–1316.
12. Shapiro S. S. An analysis of variance test for normality / S. S. Shapiro, M. B. Wilk // *Biometrika.*— 1965.— Vol. 52, № 3.— P. 591–611.
13. Bol'shev L. N. Tablicy matematicheskoj statistiki / L. N. Bol'shev, N. V. Smirnovio — M.: Nauka, 1983.— 240 s.
14. Welch B.L. Welch's k-sample test / B.L. Welch. // *Biometrika.*— 1951.— Vol. 38.— P. 330–336.
15. Sheffe G. Dispersionnyj analiz / G. Sheffe. — M.: Nauka, 1980.— 512 s.
16. Vladimirov Ju. A. Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranah / Ju. A. Vladimirov, A. I. Archakov— M.: Nauka, 1972.— 252 s.
17. Vladimirov Ju. A. Svobodnye radikaly v biologicheskikh sistemah / Ju. A. Vladimirov // *Sorosovskij obrazovatel'nyj zhurnal.*— 2000.— № 12.— S. 13–19.
18. Potapov A. A. Orientacionnaja poljarizacija: Poisk optimal'nyh modelej / A. A. Potapov. — Novosibirsk: Nauka, 2000.— 336 s.
19. Knjazev Ju. A. Jelektricheskoe soprotivlenie mochi i krovi pri diabeticheskom ketoacidoze u detej / Ju. A. Knjazev, A. V. Kartelishev, G. N. Polunina, L. F. Marchenko // *Vopr. ohrany materinstva i detstva.*— 1972.— T. 17, № 11.— S. 27–32.
20. Adel'janov A. V. Vlijanie kvercetina na dijelektricheskie harakteristiki komponent krovi krysa s saharnym diabetom / A. V. Adel'janov, O. A. Gorobchenko, O. T. Nikolov [i dr.] // *Fizika zhivogo.*— 2010.— T. 18, № 3.— S. 50–54.
21. Efimov A. S. Saharosnizhajuwie peroral'nye preparaty i ih primenenie / A. S. Efimov, S. N. Tkach — K., 1997.— 108 s.
22. Avshalumov A. C. Izmenenija reologicheskikh svojstv krovi u bol'nyh metabolicheskim sindromom / A. C. Avshalumov, B. V. Markovskij, O. I. Poliuk i dr. // *RMZh.*— 2008.— T. 16, № 4.— S. 200–205.
23. Antonov V.F. Lipidnye pory: stabil'nost' i pronicaemost' membran / V.F. Antonov // *Sorosovskij obrazovatel'nyj zhurnal.*— 1998.— № 10.— S. 10–17.
24. Jankovskij O. Ju. Toksichnost' kisloroda i biologicheskie sistemy (jevoljucionnye, jekologicheskie i mediko-biologicheskie aspekty) / O. Ju. Jankovskij. — SPb.: Igra, 2000.— 294 s.
25. Vahrusheva L. L. Metod jelektronogo paramagnitnogo rezonansa dlja kontrolja za sostojaniem uglevodnogo obmena i jeffektivnosti insulinoterapii detej, bol'nyh saharnym diabetom / L. L. Vahrusheva, A. G. Maksina, Ju. A. Knjazev [i dr.] // *Ros. vestn. perinatologii i pediatrii.*— 1999.— № 3.— S. 49–51.
26. Novickij V. V. Lipidnyj spektr membran jeritrocitov pri saharnom diabete u detej / V. V. Novickij, E. B. Kravec, M. V. Kolosova [i dr.] // *Problemy jendokrinologii.*— 2006.— T. 52, № 4.— S. 3–6.
27. Mikajeljan N. P. Sostojanie citoplazmaticheskikh membran pri jeksperimental'nom saharnom diabete / N. P. Mikajeljan, Ju. A. Knjazev, A. E. Turina [i dr.] // *Saharnyj diabet.*— 1999.— № 3 (4).— S. 48–51.
28. Chistaja S. V. Raspredelenie jeritrocitov mlekopitajuwih po indeksu sferichnosti v norme i pri diabete / S. V. Chistaja // *Materialy VI Mizhnarodnoi' konferencii' molodyh naukovcv «Biologija vid molekuly do biosfery» (Harkiv, 22–25 lystopada 2011 r.).*— Harkiv, 2011.— S. 29–31.
29. Voejkov V. L. Fiziko-himicheskie i fiziologicheskie aspekty reakcii osedaniya jeritrocitov / V. L. Voejkov // *Uspehi fiziologicheskikh nauk.*— 1998.— T. 29, № 4.— S. 55–73.
30. Bitjutskaja O. E. Novye piwevye dobavki funkcional'nogo naznachenija — «Flabimoll» — na osnove molljuskov i lekarstvennyh rastenij / O. E. Bitjutskaja, T. N. Ovsjannikova, A. G. Gubanova i dr. // *Trudy JuG-NIRO.*— 2008.— T. 46.— S. 186–191.
31. Sanduljak L. I. Svojstvo jeritrocitov deponirovat' i transportirovat' insulin / L. I. Sanduljak // *Uspehi sovremennoj biologii.*— 1987.— T. 103, № 2.— S. 207–216.
32. Abrarov A. A. Izmenenie kachestvennogo sostava jeritrocitov pri jeksperimental'nom diabete / A. A. Abrarov, H. Ja. Karimov, A. R. Israilov // *Med. zhurn. Uzbekistana.*— 1998.— № 6.— S. 43–46.
33. Smirnova O. M. Mesto metformina v sovremennom lechenii i profilaktike saharnogo diabeta 2 tipa / O. M. Smirnova // *Saharnyj diabet.*— 2010.— № 3.— S. 83–90.