erol followed for a short period time (up to 7 days), the post-transfusion value of cell survival within 24 hours is 70-75%. Destruction of erythrocytes after the transfusion is determined by their damage during freezing, according to literature data. The solution of the problem of preventing cell damage during freezing may consist in the development of combined cryo-preservatives, containing a significant fraction of the non-penetrating cryoprotectant. It was found out earlier, that the rapid freezing of erythrocytes in a medium containing non-penetrating and penetrating protective components ensures the preservation of cell resistance to the action of osmotic stress during rapid thawing. Moreover, erythrocytes frozen in these media differ slightly in osmotic and morphological characteristics of intact cells. This paper has shown that the freezing of erythrocytes in a medium containing sucrose (10%) and 1,2-propanediol (1,2-PD, 22%) with a low NaCl content (0,27%) ensures the preservation of the osmotic and morphological characteristics of cells. In addition, cellular ATP is maintained at a level of 77% of control that is necessary for the implementation of red blood cells regulation of vascular tone. It can be assumed, the effectiveness of the combined cryo-protectants is due to the fact that in the freezing stage the penetrating cryoprotectant (1,2-PD) counteracts the "critical" cell contraction, a significant contribution to which is made by the concentration of sucrose. At the same time, when thawing sucrose prevents an excessive increase in the volume of cells. In sum, there is weakening of hypertonic and osmotic stress on cells that causes the preservation of osmotic and morphological characteristics.

УДК 616.24-018:577.118:616.379-008.64]-092.9

Теслик Т.П., Понирко А.О.

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН МАКРОЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ МОЛОДОГО ВІКУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛОКСАНОВОГО ДІАБЕТУ

Сумський державний університет

В останні роки найбільш досконало та детально приділяється увага вивченню впливу цукрового діабету на серцево-судинну, нервову, сечовидільну і травну системи. А ось патоморфогенетичні зміни при хронічній гіперглікемії органів дихання залишаються маловивченими. В нашому експерименті ми досліджували легеневу тканину молодих щурів обох статей, які перебували в експерименті з 90 до 180 діб. Шматочки правої легені, висушували, проводили їх озоління, потім розчиняли у кислотах та визначали в них вміст макроелементів. Аналізуючи дані за вмістом кальцію, калію, натрію і магнію в легких експериментальних тваринах, і, зіставляючи ці показники з контролем у віковому аспекті, можна стверджувати, що хронічна гіперглікемія посилює недостатність змісту основних макроелементів центрального органу дихальної системи, яка прямо пропорційна термінам дії експериментального алоксанового діабету.

Ключові слова: легені, макроелементи, алоксановий діабет, натрій, калій, кальцій, магній.

Дана робота є фрагментом НДР «Закономірності вікових і конституціональних морфологічних перетворень внутрішніх органів і кісткової системи за умов впливу ендо- і екзогенних чинників і шляхи їх корекції», № держ. реєстрації 0113U001347.

Вступ

За даними огляду літературних джерел, органи дихання досконально вивчені на макро- та мікрорівнях [2;6;8;9]. Але питання впливу патології ендокринної системи на легені вивчена недостатньо.

Загально відомий факт про високий відсоток захворюваності людей на діабет I типу, який проявляється наявністю хронічної гіперглікемії та глюкозурії.

На сьогоднішній день причину цукрового діабету I типу знайти не вдалось, але провідні експерти-діабетологи відносять його до аутоімунних захворювань. Доведено, що у виникненні цього захворювання приймають участь протективні генотипи в поєднанні з факторами навколишнього середовища [1;3;5].

Найбільш досконало та детально приділяється увага вивченню впливу цукрового діабету на серцево-судинну, нервову, сечовидільну, травну систему, а дія хронічної гіперглікемії на органи дихання залишається маловивченою. Що стосується порушень у хімічному складі, то детальніше всього вивчена кісткова тканина. Існують дані, що пацієнти з цукровим діабетом I типу мають підвищений ризик до патологічних переломів кісток [7]. Цей факт пов`язують з порушенням диференціювання остеобластів, що призводить до їх підвищеної крихкості. Також визначено порушення синтезу колагену та еластину в дослідах по загоєнню ран [4].

В даній роботі був проведений аналіз хімічного складу легеневої тканини молодих щурів з експериментальним алоксановим діабетом в порівнянні з інтактною групою тварин.

Мета

Виявияти зміни макроелементного складу легень за умов алоксанового діабету.

Матеріали та методи дослідження

Досліджували п`ять груп білих лабораторних щурів обох статей віком 5-8 місяців, з них чотири – експериментальні та одна інтактна (табл. 1).

Таблиця 1
Розподіл експериментального матеріалу

Термін дослідження	Кількість експериментальних тварин	Кількість інтактних тварин
3 місяці	6	6
4 місяці	6	6
5 місяців	6	6
6 місяців	6	6
Всього по групам	48	

Щурі утримувались в умовах віварію кафедри морфології Медичного інституту СумДу. Перед початком досліджень кожна група щурів проходила двотижневу карантинізацію. Тварини доглядалися згідно загальноприйнятих рекомендацій, вимог та положень щодо догляду за лабораторними тваринами («Правила проведення робіт з використанням експериментальних тварин», додаток 4, затверджений наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12 серпня 1997 р., «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин»; «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах», ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.); правила, затверджені комісією з питань біоетики Медичного інституту Сумського державного університету (протокол № 4 від 22 грудня 2009 р.; Хельсинська декларація Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000); положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідницької роботи не було.

Для експериментального моделювання гіперглікемії, яка обумовлюється абсолютною недостатністю інсуліну в організмі, ми використовували хімічну сполуку – алоксан. Після 24-годинного голодування на тлі нормальних показників крові тваринам вводили підшкірно розчин дигідрату алоксану в дозі 20мг на 100г ваги в 0,1М цитратному буфері (рН 4,0). Щурі чотирьох експериментальних вікових груп знаходилися в стані хронічної гіперглікемії від 30 до 180 доби; п`ята група слугувала контролем (інтактні тварини). Забій шести щурів кожної вікової групи проводили кожні 30 днів шляхом розтину грудної клітини під внутрішньоочеревинним тіопентал-натрієвим наркозом.

Були використані наступні методи дослідження легень: хіміко-аналітичний аналіз, глюкозооксидазний тест з визначенням рівня глюкози у венозній крові та рівня глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) на 90 добу експерименту для підтвердження наявності у тварин гіперглікемії. Усі отримані числові показники підлягали статистичній обробці з використанням персонального комп'ютера Acer та ліцензійної програми-редактора електронних таблиць Excel XP пакета Microsoft Office 2013. Проводили обчислення середньої арифметичної (М), середньої помилки середньої величини (m). Визначали достовірність різниці (р) з урахуванням критерію Ст'юдента (t), вважаючи за достовірне ймовірність помилки менше 5% ($p \leq 0{,}01$).

Результати дослідження та їх обговорення

Всі цифрові показники у експериментальних та інтактних тварин представлені у табл. 2.

Що стосується змін вмісту натрію у щурів інтактної групи у віці від п`яти місяців до восьми місяців, можна стверджувати, що його кількість залишається практично на одному рівні. Хронічна гіперглікемія обумовлює достовірне зниження вмісту цього елементу. Якщо на 90 добу експерименту відсоток натрію становить 3,19±0,01 мг/г, вже на 120 добу – 2,4±0,02 мг/г, на 150 добу – 2,43±0,03 мг/г, а на 180 добу – 2,33±0,04 мг/г. Це свідчить про загальне зменшення кількості вищевказаного елементу у легенях щурів на 26,9% ($p \leq 0{,}001$).

Вміст калію у легенях тварин інтактної групи з віком також практично незмінний, а у щурів, які перебували в експерименті, кількість цього елементу на 90 добу складає 9,56±1,34 мг/г (збільшується на 17,2% ($p \leq 0{,}001$), на 150 добу становить 11,2±1,14 мг/г. На 180 добу досліду кількість калію в легенях щурів складає 8,99±1,01 мг/г.

Таблиця 2
Макроелементний склад легень щурів молодого віку інтактної групи та щурів в умовах експериментального алоксанового діабету (M±m), n=6

Показник	Інтактні щурі	90 діб ЦД	Інтактні щурі	120 діб ЦД	Інтактні щурі	150 діб ЦД	Інтактні щурі	180 діб ЦД
Натрій, мг/г	3,08±0,1	3,19±0,01**	3,07±0,01	2,40±0,012*	3,05±0,01	2,43±0,03*	3,05±0,01	2,33±0,04*
Калій, мг/г	9,34±0,9	9,56±1,34*	9,35±1,11	9,84±0*	9,4±1,1	11,2±1,14*	9,46±1,1	8,99±1,01*
Кальцій, мг/г	129,9±0,02	138,9±0,29*	129,0±0,17	89,3±0,17*	129,3±0,2	81,4±0,19*	129,02±0,11	87,5±1,08*
Магній, мг/г	350,9±5,9	352,2±6,89*	294,0±6,07	232,5±11,09*	324,0±6,1	241,7±15,89*	254,0±6,03	214,0±10,93*
ГК,ммоль/л	5,4±1,3	8,3±0,3*	3,5±0,1	8,5±0,1*	6,0±0,1	8,7±0,1*	6,3±0,1	8,1±0,1*
HbA1C%	4,7±0,6	8,1±0,3*	4,0±0,04	8,6±0,1*	4,5±0,04	8,3±0,1*	5,1±0,1	7,05±0,1*

*Примітка: * $p \leq 0{,}001$; ** $p \leq 0{,}01$*

Кількість кальцію в легенях тварин інтактної групи у п`ять місяців становить 129,9±0,02 мг/г та зменшується з віком до 129,02±0,11 мг/г. У щурів такого ж віку, що перебували в умовах хронічної гіперглікемії, вміст цього елементу змінюється наступним чином: на 90 добу експерименту його кількість складає 138,9±0,29 мг/г, на 120 добу - значно зменшується до 89,3±0,17 мг/г; на 150 добу – 81,4±0,19 мг/г, на 180 добу - 87,5±1,08 мг/г. Таким чином, кількість кальцію в легенях від початку та до кінця досліду зменшується загалом на 37,01% ($p \le 0,001$).

Кількість магнію в легенях інтактних щурів віком від п`яти до восьми місяців знижується практично у 1,5 рази з 350,9±5,9 мг/г до 254,0±6,03мг/г, відповідно. Зі збільшенням терміну цукрового діабету з 90 по 180 добу відбувається зменшення вмісту магнію у легенях на 39,2% ($p \le 0,001$), а саме: на 90 добу експерименту кількість цього макроелементу становить 352,2±6,89 мг/г, на 120 добу – 232,5±11,09 мг/г, на 150 добу – 241,7±15,89 мг/г, на 180 добу – 214,0±10,93 мг/г.

Показники рівня глюкози крові та глікозильованого гемоглобіну тварин інтактної групи знаходились у межах нормальних показників (3,5 – 6,3 ммоль/л та 4,0 – 5,1% відповідно). У тварин з цукровим діабетом рівень глюкози крові коливався від 8,1 до 8,7 ммоль/л, а рівень HbA1C від 7,05% до 8,6%, що доводить наявність у них гіперглікемії.

Висновки

Аналізуючи дані щодо вмісту кальцію, калію, натрію і магнію у легенях експериментальних тварин, та, співставляючи ці показники з контролем у віковому аспекті, можна стверджувати, що хронічна гіперглікемія посилює недостатність вмісту основних макроелементів центрального органу дихальної системи, яка прямо пропорційна строкам дії експериментального алоксанового діабету.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується дослідити вміст мікроелементів у легенях щурів за умов алоксанового діабету.

Література

1. Ahsan Zil-E-Ali. Think Before Chopping a Diabetic Foot: Insight to Vascular Intervention / Ahsan Zil-E-Ali, Saadia Shafi [et al.] // Cureus. – 2017. – Vol. 9 (4). – P. 1-3.
2. Ajay Ratnakarro Nene. Lung lobes and fissures: a morphological study / Ajay Ratnakarro Nene, Krishna Swami Gajerdra [et al.] // Internatuonal journal of experimental and clinical anatomy. – 2011. – Vol. 5. – P. 30-38.
3. Бузлама А.В. Изучение гипогликемических и антидиабетических свойств гуматов различного происхождения в эксперименте / А.В. Бузлама, Ю.Н. Чернов, А.И. Сливкин // Вестник ВГУ, серия: химия, биология, фармация. – 2010. - № 1 – С. 140-145.
4. Mitchel Tate. Exendin-4 attenuates adverse cardiac remodelling in streptozocininduced diabetes via specific actions on infiltrating macrophages / Mitchel Tate, Emma Robinson [et al.] // Basic Res Cardiol. – 2016. – Vol. 111. – P. 1-13.
5. Пальчикова Н.А. Гормонально-биохимические особенности аллоксановой и стрептозотоциновой моделей экспериментального диабета / Н.А. Пальчикова, Н.В. Кузнецова, О.И. Кузьминова, В.Г. Селятицкая // Бюлетень СО РАМН. – 2013. – Т. 36, № 3. – С. 19-23.
6. Петренко В.М. Анатомия легких у белой крысы / В.М. Петренко // Biological sciences. – 2013. - № 10 – С. 414-417.
7. Jagadapillai Rekha. Diabetic Microvascular Disease and Pulmonary Fibrosis: The Contribution of Platelets and Systemic Inflammation / Rekha Jagadapillai, Madhavi J. Rane [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2016. – Vol. 17. – P. 1-13.
8. Соколов В.В. Современные представления о сегментарном строении легких / В.В. Соколов, Л.В.Телегина // Эндоскопия. – 2012. - № 2. – С. 17-20.
9. Stefansson K. A variant associated with nicotine dependence, lung cancer and peripherial disease / K. Stefansson // Nature. – 2015. - №32. – P. 638-642.

Реферат

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ МАКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ЛЕГКИХ КРЫС МОЛОДОГО ВОЗРАСТА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА

Теслык Т.П., Понырко А.О.

Ключевые слова: легкие, макроэлементы, аллоксановый диабет, натрий, калий, кальций, магний.

В последние годы наиболее совершенно и подробно уделяется внимание изучению влияния сахарного диабета на сердечнососудистую, нервную, мочевыделительную и пищеварительную системы. А вот патоморфогенетические изменения при хронической гипергликемии органов дыхания остаются малоизученными. В нашем эксперименте мы исследовали легочную ткань молодых крыс обоего пола, находящихся в эксперименте с 90 до 180 дней. Кусочки правого легкого, высушивали, проводили их озоление, затем растворяли в кислотах и определяли в них содержание макроэлементов. Анализируя данные по содержанию кальция, калия, натрия и магния в легких экспериментальных животных, и, сопоставляя эти показатели с контролем в возрастном аспекте, можно утверждать, что хроническая гипергликемия усиливает недостаточность содержания основных макроэлементов центрального органа дыхательной системы, которая прямо пропорциональна срокам действия экспериментального алоксанового диабета.

Summary

PECULIARITIES OF CHANGES IN TRACE-ELEMENT COMPOSITION OF LUNGS IN YOUNG RATS UNDER MODELLED ALLOXANE-INDUCED DIABETES

Teslyk T.P., Ponyrko A.A.

Key words: lungs, trace elements, alloxane-induced diabetes, natrium, potassium, calcium, magnesium.

A well-known fact about the high percentage of people with type I diabetes is a manifestation of a "breakdown" in the endocrine system displayed by the presence of chronic hyperglycemia and glucosuria. Today, the cause of type I diabetes has not been found out yet, but leading diabetes experts attribute it to autoimmune diseases, indicating the role of protective genotypes in conjunction with environmental factors. The most thorough and detailed attention is paid to the study of the impact of diabetes mellitus on the changes in cardiovascular, nervous, urinary, and digestive systems. The pathomorphogenetic effect of chronic hyperglycemia on the respiratory organs is still remaining unclear. As for disorders in the trace-element composition, the bone tissue has been studied very well. There are a lot of evidenced that patients with type I diabetes have an increased risk of pathological bone fractures. It has been reported that in case of "experienced" diabetes, glycosylation products and the parallel effect of blood vessels and nerves contribute more actively to reducing the mineral density of bone tissue (29% decrease in tensile strength and 50% density). This work was aimed at analyzing the chemical composition of pulmonary tissue in young rats subjected to modelled alloxane-induced diabetes and comparing them with the control intact group. To model hyperglycemia caused by absolute insulin insufficiency, we used alloxane. Following a 24-hour fasting, animals were subcutaneously injected with a solution of dihydrate aloxane in a dose of 20 mg per 100 g of weight in 0.1 M citrate buffer (pH 4.0). We used the following methods to the study lung tissues: chemical analysis, glucose oxidase test to determine the level of glucose in venous blood and the level of glycosylated haemoglobin (HbA1c) in 90 days of the experiment to confirm the presence of hyperglycemia in animals. All the received numerical indices were subject to statistical processing. In experiment, we investigated the pulmonary tissue of advanced age rats, which were in the experiment from 90 to 180 days. These were white, non-breeding rats of both sexes. Samples taken from the right lung were dried, subjected toozonation, and then dissolved in acids before evaluating the content of trace-elements. Analyzing data on the content of calcium, potassium, sodium, and magnesium in the lungs of experimental animals, and comparing these parameters with age control, we can argued that chronic hyperglycemia increases the inadequacy of the content of the main trace elements of the central organ of the respiratory system that is directly proportional to the duration of the experimental alloxane-induced diabetes.