

І.В. Бродяк, А.Р. Гнатуш, Н.О. Сибірна

## Морфологічна характеристика плазматичних мембран лімфоцитів за умов експериментального цукрового діабету на тлі впливу L-аргініну та аміногуанідину

*Досліджено діаметр і площу лімфоцитів та їхніх ядер, резервні та регуляторні можливості мембран цих клітин у нормі та за умов експериментального цукрового діабету (ЦД), а також на тлі введення екзогенного L-аргініну або аміногуанідину. У тварин з ЦД виявили істотне розходження в розмірі та мембранному фонді лімфоцитів, який для цих клітин у контролі становив 70 %, а при діабеті – 40 %, що може бути однією з причин, які провокують зміни у властивостях і функціональному стані лімфоцитів. За умов діабету введення екзогенного L-аргініну та аміногуанідину спричинило позитивний коригувальний ефект – об'єм лімфоцитів зменшився, та покращилися регуляторні можливості мембран цих клітин.*

*Ключові слова: лімфоцити, експериментальний цукровий діабет, L-аргінін, аміногуанідин.*

### ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) характеризується розвитком гіпоксичного стану. За умов гіпоксії дефіцит енергетичних субстратів активує вільнорадикальне окиснення та підвищує стабільність метаболітів оксиду азоту, що призводить до посилення цитотоксичних властивостей активних форм кисню та до розвитку оксидативного стресу [1, 7, 8, 15]. Патогенетична роль останнього пов'язана з пошкодженням ДНК, ліпідів, білків, порушенням клітинного гомеостазу та накопиченням молекул із зміненою структурою [3, 12]. Окиснення білкових і ліпідних компонентів плазматичної мембрани може викликати деполаризацію, зміни у білково-ліпідному складі та резервних можливостях мембран або лізис клітин [4, 13].

За умов діабету для послаблення токсичної дії вільних радикалів кисню використовується різноманітні речовини, зокрема L-аргінін. Дані літератури з цього питання суперечливі, тому що аргінін, як відомо,

є донором оксиду азоту, але з іншого боку, може виступати чинником, який пригнічує виділення супероксидного аніона. В одних дослідженнях показано [1], що у тварин, хворих на ЦД, при введенні L-аргініну збільшується вміст глюкози та глікозильованого гемоглобіну у крові, тобто посилюється патологічний стан. Інші дані літератури, навпаки, вказують на можливість коригувального позитивного ефекту введення L-аргініну [6, 9]. Існує кілька шляхів сприятливого впливу екзогенного L-аргініну при діабеті. Одним з основних є зниження переокисного окиснення ліпідів під час тривалого прийому аргініну [9], що може бути перспективним напрямком у діабетології. Застосування аміногуанідину (АГ) – селективного інгібітора індукцибельної NO-синтази та інгібітора неферментативного глікозилювання, а також чинника, здатного попереджати посттрансляційні модифікації білків за участю пероксинітриду, є відмінним від дії L-аргініну, проте актуальним

© І.В. Бродяк, А.Р. Гнатуш, Н.О. Сибірна

напрямок при цій патології [2].

Мета нашої роботи – дослідження об'єму лімфоцитів, діаметра їхніх ядер, резервних і регуляторних можливостей мембран цих клітин у нормі та за умов експериментального ЦД, а також впливу системи L-аргінін–NO на зміни у структурі мембран при введенні екзогенного L-аргініну і АГ.

## МЕТОДИКА

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар масою 120–140 г. Тваринам забезпечили вільний доступ до їжі та води із перебуванням у стандартних умовах (12-годинна зміна світла та темряви). ЦД викликали внутрішньоочеревинним введенням стрептозоточину фірми “Sigma” (США) у дозі 7 мг/100 г. Стрептозоточин розчиняли в 10 ммоль/л цитратному буфері; рН 5,5. Розвиток діабету контролювали за вмістом глюкози в крові, яку визначали глюкозооксидазним методом з використанням набору реактивів “Lachema” (Чехія). В експерименті використовували тварин зі вмістом глюкози 14–16 ммоль/л. Через 72 год з моменту індукції діабету тваринам однієї групи починали вводити з питною водою L-аргінін (“Reanal”, Угорщина) в концентрації 1,25 г/л протягом 14 діб, а іншій групі – АГ (“Sigma”, США) у концентрації 1 г/л протягом 30 діб. Тварин, яким вводили досліджувані речовини, декапітували під ефірним наркозом відповідно на 14-ту та 30-ту добу експерименту.

Забір крові для отримання лейкоцитів проводили з застосуванням 3,8%-го розчину цитрату натрію (кінцеве розведення цитрат натрію : кров = 1:100).

Лімфоцити виділяли з цитратної крові у градієнті густини з використанням Gradisol-G (“Aqua-medica”, Польща) згідно з інструкцією фірми-виробника. Після центрифугування клітини двічі відмивали в забуференому фізіологічному розчині (рН

7,2–7,4). Життєздатність клітин у тесті з трипановим синім була не меншою ніж 98 %.

У камері Горяєва підраховували кількість виділених лімфоцитів, які центрифугували при 1500 хв<sup>-1</sup> протягом 5 хв, відбирали надосадову рідину, а тоді концентрацію клітин в осаді доводили до 100–200 тис./мкл.

У пробірки об'ємом 1,5 мл поміщали по 10 мкл суспензії лімфоцитів. Додавали по 100 мкл одного із розчинів хлориду натрію (0,9; 0,45; 0,2 %). В 0,45%-му розчині хлориду натрію клітини інкубували 40 с, 60 с, 5 хв чи 1 год. В 0,2%-му розчині хлориду натрію клітини інкубували 40 с. Перша пробірка (0,9%-й розчин хлориду натрію) була контролем. Із інших пробірок після певного проміжку часу інкубації забирали і переносили на предметне скло краплю розведеної суспензії об'ємом 5 мкл. Із цієї краплі виготовляли мазок і фіксували метиловим спиртом. Клітини зафарбовували за Романовським. Під світловим мікроскопом при збільшенні 1350 (окуляр-мікромір MOB-1-15\*) вимірювали діаметр клітин. Виразовували середній діаметр (D) для 40–50 лімфоцитів на одному мазку. Площу поверхні клітин розраховували за формулою:  $S = \pi D^2$ .

Порівнюючи розміри клітин в ізотонічному розчині та після 1-годинної інкубації в гіпотонічному розчині, визначали регуляторну здатність клітин. Оцінку проводили за коефіцієнтом, який вираховували як відношення різниці діаметрів до вихідного діаметра клітин:

$$\text{коефіцієнт регуляторної здатності} = (D_{0,45\% (1 \text{ год})} - D_{0,9\%}) / D_{0,9\%}$$

Резервні можливості мембрани визначали за зміною розміру клітин після 40-секундної інкубації в 0,2%-му розчині хлориду натрію порівняно з вихідним значенням. Розраховували індекс резервної поверхні:  $S_{0,2\%} / S_{0,9\%}$ . Зменшення індексу є показником дефіциту мембранного фонду [10].

Результати досліджень обробляли статистично з використання середнього арифметичного та стандартної похибки ( $M \pm m$ ), а також достовірного інтервалу, що використовувався при оцінці ступеня достовірності ( $P$ ) за допомогою критерію  $t$  Стьюдента. Розбіжності вважалися статистично достовірними при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Щоб установити основні відмінності в розмірі лімфоцитів периферичної крові при ЦД порівняно з контролем, морфометрично досліджували напрямки змін у розмірі цих клітин при введенні екзогенного L-аргініну або АГ.

Залежно від виміряних діаметрів лімфоцитів (у мікрометрах), графічно зображали розподіл клітин у відсотковому відношенні, а отримані результати представляли у вигляді лейкоцитограми (рис. 1).

У популяції лімфоцитів контрольних тварин виявили, що клітини характеризуються широкою варіацією розмірів – від 3 до 14 мкм (див. рис. 1). Більшість лімфоцитів (23 %) мають розмір 7 мкм. Малі

лімфоцити мають діаметр до 6 мкм. Середні – від 6 до 8 мкм – це клітини, які синтезують антитіла [16]. Лімфоцити великого розміру мають діаметр більше ніж 8 мкм – це клітини з вираженою мітотичною активністю [5].

Поєднання різних пулів лімфоїдних клітин у периферичній крові або перевага одного із них впливає на характер клінічного перебігу захворювання та імунний статус хворого [5]. Морфологічно лімфоцити периферичної крові контрольних щурів і тварин з ЦД мало відрізняються, тоді як при діабеті статистичний аналіз розподілу лімфоцитів за розміром виявив зсув кривої розподілу вправо до субпопуляції великих лімфоїдних клітин (8–10 мкм) порівняно з кривою розподілу в контролі (див. рис. 1).

При ЦД спостерігається зменшення вмісту малих лімфоцитів розміром до 7 мкм, що може вказувати на зниження кількості Т-хелперів [11] і, як наслідок, маємо порушення клітинного імунітету та цитотоксичної функції Т-ефекторів і натуральних кілерів [5, 10, 16]. Такі зміни, можливо, зумовлені частковим порушенням лімфоцитопоезу в результаті зниження

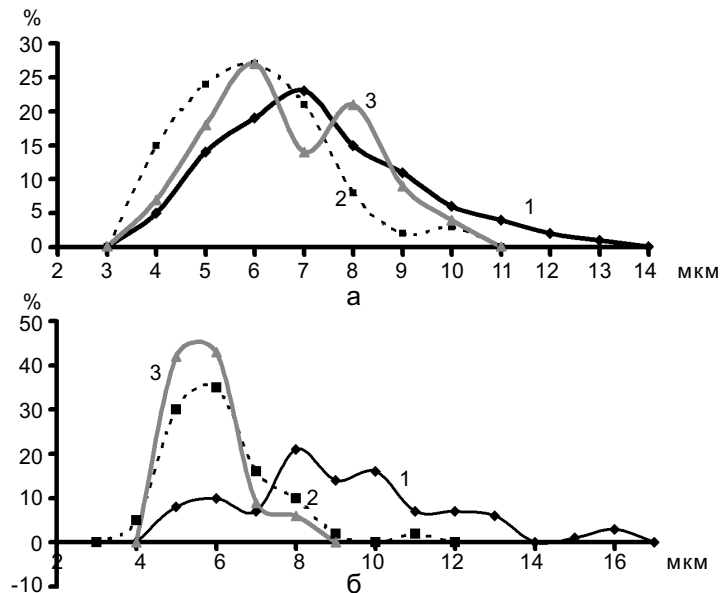


Рис. 1. Вплив L-аргініну та аміногуанідину на лейкоцитограму контрольних щурів (а) і тварин з експериментальним стрептозотоциновим діабетом (б). 1 – без введення препаратів, 2 – введення L-аргініну, 3 – введення аміногуанідину

концентрації інсуліну. Аналіз патофізіологічного та біохімічного профілю системи крові ссавців та людини при ЦД показав, що залежність проліферативної та функціональної активності її клітин від інсуліну є функцією еволюційного часу цієї системи, а сам гормон має властивості спільного гемопоетину [14, 17].

На рис. 1 наведено три лейкоцитограми, які відображають розподіл лімфоцитів без введення досліджуваних речовин і під впливом L-аргініну та АГ. Після введення аргініну лейкоцитограма як у контролі, так і при діабеті показали збільшення числа малих лімфоцитів від 3 до 12 мкм з максимальним числом клітин розміром 6 мкм. Лімфоцити контрольних тварин під впливом АГ утворюють на лейкоцитограмі два піки: один пік з максимальним числом клітин розміром 6 мкм, а інший – 8 мкм. За умов діабету введення АГ, як і у разі з L-аргініном, викликало зсув кривої вліво до

популяції малих лімфоцитів діаметром 6 мкм. Їхня кількість зросла до 45 %. Таким чином, введення досліджуваних речовин призводило до появи у периферичній крові контрольних щурів і тварин з ЦД лімфоцитів малого розміру, які відповідають за клітинні реакції імунного захисту організму.

На другому етапі для дослідження впливу системи L-аргінін–NO на зміни у діаметрі та площі лімфоцитів крові клітини інкубували в розчинах хлориду натрію різної осмолярності. Порівняння отриманих морфологічних показників лімфоцитів крові контрольних тварин при інкубації в 0,45%-му розчині хлориду натрію від 40 с до 1 год показало, що об'єм клітин збільшується впродовж перших 40–60 с (табл. 1). З 5-ї хвилини розмір клітин зменшується. Стабільного стану лімфоцити сягали приблизно до кінця 60-ї хвилини. В 0,2%-му розчині хлориду натрію на 40-й секунді інкубації

**Таблиця 1. Зміна розмірів лімфоцитів, інкубованих у розчинах хлориду натрію різної осмолярності (M ± m, n = 6)**

Група тварин; показник	Концентрація розчину, час інкубації клітин					
	0,9 %	0,45 %	0,45 %	0,45 %	0,45 %	0,2 %
	0 с	40 с	60 с	5 хв	1 год	40 с
<b>Контроль</b>						
Діаметр, мкм	7,2 ± 0,3	8,3 ± 0,5*	8,0 ± 0,3*	7,8 ± 0,3	7,5 ± 0,4	12,3 ± 0,6*
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	163	215	200	197	185	471
<b>Введення L-аргініну</b>						
Діаметр, мкм	6,0 ± 0,3*	6,3 ± 0,4	6,3 ± 0,3	6,1 ± 0,3	5,8 ± 0,4	7,8 ± 0,5
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	113	125	126	115	108	191
<b>Введення аміногуанідину</b>						
Діаметр, мкм	6,7 ± 0,4	7,7 ± 0,3	6,9 ± 0,4	7,5 ± 0,5	7,4 ± 0,4	7,6 ± 0,6
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	140	186	150	175	173	181
<b>Цукровий діабет</b>						
Діаметр, мкм	9,1 ± 0,5*	10,1 ± 0,4**	9,8 ± 0,3**	9,9 ± 0,4**	8,0 ± 0,3**	12,7 ± 0,5**
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	257	322	193	311	201	508
<b>Введення L-аргініну</b>						
Діаметр, мкм	6,1 ± 0,4**	6,7 ± 0,3	6,9 ± 0,4	7,1 ± 0,4	6,3 ± 0,3	7,7 ± 0,4
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	117	143	149	160	125	187
<b>Введення аміногуанідину</b>						
Діаметр, мкм	5,8 ± 0,3**	7,4 ± 0,4	6,8 ± 0,4	7,0 ± 0,3	7,4 ± 0,5	7,8 ± 0,5
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	105	171	144	152	170	192

Примітка. Тут і в табл. 2: \* P < 0,05 – порівняно з контрольними клітинами, інкубованими в 0,9%-му розчині хлориду натрію; \*\* P < 0,05 – порівняно з лімфоцитами тварин, хворих на цукровий діабет (інкубація в 0,9%-му розчині хлориду натрію).

набухання лімфоцитів було найбільш вираженим.

При ЦД у морфометрії лімфоцитів зареєстрували такі зміни: на 40-й секунді інкубації в 0,45%-му розчині хлориду натрію об'єм клітин у середньому збільшувався на 1 мкм і залишався в цьому діапазоні (10,1 мкм  $\pm$  0,4 мкм) протягом наступних 5 хв експозиції, а через 1 год – зменшувався до 8,0 мкм  $\pm$  0,3 мкм. При діабеті на 40-й секунді інкубації в 0,2%-му розчині хлориду натрію цей показник зростав на 40 % порівняно з розміром лімфоцитів у фізіологічному розчині (див. табл. 1).

Морфометричне дослідження лімфоцитів контрольних тварин при введенні L-аргініну показало, що під час інкубації лімфоцитів у 0,45%-му розчині хлориду натрію об'єм клітин достовірно збільшувався; в 0,2%-му розчині хлориду натрію діаметр досліджуваних лейкоцитів зростав на 30 % (див. табл. 1). Під впливом АГ у розмірах лімфоцитів контрольних щурів спостерігаються такі зміни: в 0,45%-му розчині хлориду натрію впродовж перших 40 с об'єм клітин збільшувався; з 5-ї хвилини клітини набували стабільного розміру, який не змінювався до кінця 60-ї хвилини інкубації; в 0,2%-му розчині хлориду натрію діаметр і площа лімфоцитів зростали лише на 15 %.

Встановлено, що в щурів з ЦД на тлі впливу L-аргініну впродовж перших 5 хв інкубації в 0,45%-му розчині хлориду натрію розмір лімфоцитів збільшувався і сягав стабільного (вихідного) значення через 1 год експозиції. Збільшувався також діаметр лімфоцитів у 0,2%-му розчині хлориду натрію на 26 % порівняно з клітинами у фізіологічному розчині (див. табл. 1). При дії АГ розмір лімфоцитів зростав упродовж перших 5 хв інкубації в 0,45%-му розчині хлориду натрію і сягав максимальних значень при експозиції в 0,2%-му розчині (див. табл. 1). Слід відмітити, що до кінця 60-ї хвилини інкубації в 0,45%-му розчині хлориду натрію лімфоцити так і не досягали

вихідного розміру.

На третьому етапі досліджень порівнювали розмір лімфоцитів та діаметр їх ядер під час інкубації в розчинах різної осмолярності, а також на тлі введення L-аргініну або АГ.

Порівняльне дослідження розмірів ядра (табл. 2) і клітини (див. табл. 1) показало, що резерв цитоплазматичної мембрани лімфоцитів контрольних тварин значно перевищив резерв ядерної мембрани (при інкубації в 0,2%-му розчині хлориду натрію діаметр лімфоцитів збільшувався на 72 % порівняно з 53 % для ядерної мембрани цих клітин). Аналіз розмірів ядер лімфоцитів у контрольних тварин на тлі введення L-аргініну порівняно зі значеннями у щурів без дії речовин дав змогу виявити зменшення розміру ядра на 12 % (0,9%-й розчин хлориду натрію). При введенні L-аргініну резерв цитоплазматичної мембрани лімфоцитів не перевищив резерв ядерної мембрани (в 0,2%-му розчині хлориду натрію діаметр лімфоцита збільшувався на 30 %, а ядерної мембрани – на 28 %; див. табл. 2).

Під впливом АГ у контрольних щурів не змінювався розмір ядра лімфоцита (інкубація в 0,2%-му розчині хлориду натрію), а резерв цитоплазматичної мембрани цих клітин не перевищив резерв ядерної мембрани і зростав лише на 15 % (див. табл. 2).

За умов стрептозотоцинового діабету розмір лімфоцитів, інкубованих у 0,2%-му розчині хлориду натрію, збільшувався на 40 % (див. табл. 1), а розмір ядра – на 27 %, що вказує на перевищення резерву цитоплазматичної мембрани клітин над резервом ядерної мембрани (див. табл. 2). Проте порівняно з контрольними тваринами при діабеті порушується резерв як для цитоплазматичної, так і для ядерної мембран лімфоцитів.

На тлі введення L-аргініну та АГ у тварин з ЦД розмір ядра зменшувався на 29 % порівняно зі значеннями у щурів без введення (див. табл. 2). При діабеті L-аргінін викликав зміни у мембранному

фонді лімфоцитів: інкубація клітин у 0,2%-му розчині хлориду натрію призводила до збільшення діаметра клітин на 26 %, а ядра – лише на 12 %. Таким чином, при ЦД на тлі введення L-аргініну, незважаючи на зменшення розміру лімфоцитів і їхніх ядер, резерв цитоплазматичної мембрани цих клітин перевищив резерв ядерної мембрани удвічі, що опосередковано може свідчити про покращення міграційних властивостей лімфоцитів крові. Відомо, що резервні білки плазматичної мембрани лейкоцитів містяться в секреторних пухирцях. Під час стимуляції клітин вони переміщуються до цитолемі, транспортуючи різні білки та адгезивні молекули до поверхні лімфоцитів, і цим забезпечують їхню міграцію із кровоносних судин у тканини.

Отже, морфометрія лімфоцитів щурів з ЦД дала змогу встановити особливості кінетики об'єму цих клітин, яка проявлялася в зміні ядерно-цитоплазматичного відношення в бік помітного збільшення частки цитоплазми.

Порівнюючи розміри клітин в ізотоніч-

ному розчині та після інкубації в гіпотонічних розчинах, оцінювали регуляторну здатність і резервні можливості лімфоцитів.

Незначне збільшення розміру клітин (від 7,2 мкм у контролі до 7,5 мкм на тлі експозиції в 0,45%-му розчині хлориду натрію, 1 год) свідчить про нормальну регуляторну здатність лімфоцитів контрольних тварин. Провівши порівняльний аналіз напрямку змін коефіцієнта регуляторних можливостей мембран лімфоцитів контрольних щурів, встановили, що на тлі впливу L-аргініну досліджувана властивість клітин погіршувалася, а під впливом АГ – покращувалася (рис. 2).

Порівнюючи отримані результати за умов ЦД з контрольними значеннями, можна стверджувати, що при діабеті порушуються регуляторні можливості мембран лімфоцитів, що є наслідком розрегульованості всіх типів обміну речовин і негативного впливу гіперосмолярності внутрішнього середовища, зумовленого високою концентрацією глюкози у перифе-

**Таблиця 2. Зміна розмірів ядер лімфоцитів, інкубованих у розчинах хлориду натрію різної осмолярності (M ± m, n = 6)**

Група тварин; показник	Концентрація розчину, час інкубації клітин		
	0,9 %	0,45 %	0,2 %
	0 с	40 с	40 с
Контроль			
Діаметр, мкм	6,6 ± 0,3	7,6 ± 0,4*	10,3 ± 0,6*
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	135	179	333
Введення L-аргініну			
Діаметр, мкм	5,8 ± 0,4	6,1 ± 0,3	7,4 ± 0,4*
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	106	117	172
Введення аміногуанідину			
Діаметр, мкм	6,4 ± 0,3	7,4 ± 0,4*	7,4 ± 0,3*
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	129	173	171
Цукровий діабет			
Діаметр, мкм	8,1 ± 0,6*	8,9 ± 0,5	10,3 ± 0,6**
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	206	246	330
Введення L-аргініну			
Діаметр, мкм	5,9 ± 0,3**	6,5 ± 0,4	6,6 ± 0,4
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	111	134	138
Введення аміногуанідину			
Діаметр, мкм	5,6 ± 0,3**	7,2 ± 0,4**	7,6 ± 0,5**
Площа поверхні, мкм <sup>2</sup>	100	161	183

ричній крові [6, 18]. За умов стрептозотоцинового діабету введення L-аргініну та АГ покращило мембранну регуляцію клітин у порівнянні з вихідними значеннями при діабеті.

У контрольних щурів на тлі введення L-аргініну та АГ зниження резервного індексу лімфоцитів (див. рис. 2) свідчить про дефіцит мембранного фонду.

При ЦД у лімфоцитах виявили достовірне зменшення мембранного резерву порівняно з контролем. Введення L-аргініну викликало незначне зниження індексу резервних можливостей цитоплазматичних мембран лімфоцитів, проте під впливом АГ досліджувана властивість не зазнавала вірогідних змін порівняно з лімфоцитами при діабеті. Отже, у тварин з експериментальним ЦД введення досліджуваних речовин викликало позитивний коригувальний ефект на регуляторну здатність мембран лімфоцитів крові та незначні зміни у резервному фонді цих клітин.

## ВИСНОВКИ

1. При морфометричному дослідженні лейкоцитів крові щурів з експериментальним ЦД виявлено зменшення числа малих лімфоцитів розміром до 7 мкм та збільшення субпопуляції великих лімфоцитів (8–10 мкм), тоді як на тлі дії АГ і L-аргініну кількість малих лімфоцитів діаметром 6 мкм збільшилася до 45 %, сягаючи контрольних значень.

2. При стрептозотоциновому діабеті порушується резерв ядерної та цитоплазматичної мембран лімфоцитів, який для цих клітин у контролі становив 70 %, а при діабеті – 40 %, що може бути однією з причин, які провокують зміни властивостей і функціонального стану лейкоцитів периферичної крові за досліджуваної патології.

3. За умов експериментального ЦД при введенні L-аргініну, незважаючи на зменшення розмірів лімфоцитів та їхніх ядер, резерв цитоплазматичної мембрани цих

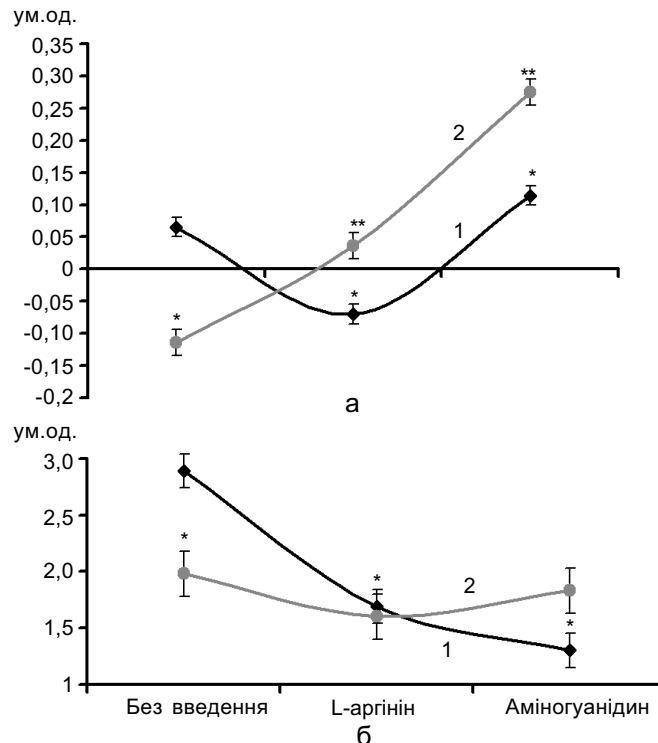


Рис 2. Зміни коефіцієнта регуляторних можливостей (а) та індексу резервних можливостей (б) мембран лімфоцитів у контролі (1) та за умов експериментального діабету (2), а також на тлі введення L-аргініну або аміногуанідину. \*  $P < 0,05$  – порівняно з контролем; \*\*  $P < 0,05$  – порівняно з експериментальним діабетом

клітин перевищив резерв ядерної мембрани вдвічі, а також поліпшилася регуляторна здатність мембран лімфоцитів порівняно з вихідними значеннями при діабеті.

4. У тварин з експериментальним ЦД екзогенний L-аргінін і АГ проявили позитивний коригувальний ефект щодо морфологічних і фізіологічних характеристик мембран лімфоцитів, що може свідчити про покращення адгезивних і рухових властивостей лейкоцитів у мікросудинному руслі за цих умов.

**И.В. Бродяк, А.Р. Гнатуш, Н.А. Сибирная**

**МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ НА ФОНЕ ВЛИЯНИЯ L-АРГИНИНА И АМИНОГУАНИДИНА**

Исследовано диаметр и площадь лимфоцитов и их ядер, резервные и регуляторные возможности мембран этих клеток в норме и при экспериментальном сахарном диабете (СД), а также на фоне введения экзогенного L-аргинина или аминоксидина. Обнаружено достоверное отличие в размере и мембранном фонде лимфоцитов животных с СД, который для этих клеток в контроле составлял 70 %, а при диабете – 40 %, что может быть одной из причин, которые провоцируют изменения в свойствах и функциональном состоянии лимфоцитов. Введение экзогенного L-аргинина и аминоксидина в условиях СД имело положительный корригирующий эффект – объём лимфоцитов уменьшался и улучшались регуляторные возможности мембран этих клеток.

Ключевые слова: лимфоциты, экспериментальный сахарный диабет, L-аргинин, аминоксидин.

**I.V. Brodyak, A.R. Hnatysh, N.O. Sybirna**

**EFFECT OF L-ARGININE AND AMINOGLUCANIDE SYSTEM ON MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PLASMA MEMBRANES OF BLOOD LYMPHOCYTES DURING EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS**

Diameter, the surface area of lymphocytes and their nuclei as well as the reserve potential and regulatory properties of lymphocytes membranes in control rats, in rats with experimental diabetes mellitus before and after administration of L-arginine and aminoguanidine were investigated. Significant dif-

ference in size and the membrane fund of lymphocytes in animals with experimental diabetes mellitus was detected. In control lymphocytes, the membrane fund was 70% while during diabetes mellitus it was 40%. Such a difference might be one of the reasons of changes in properties and functional state of lymphocytes in diabetes. Administration of L-arginine and aminoguanidine to diabetic animals caused positive effect: the volume of lymphocytes diminished and the regulatory membrane properties of these cells became better.

Key words: lymphocytes, experimental diabetes mellitus, L-arginine, aminoguanidine.

*Ivan Franko National University of L'viv*

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Бродяк І.В., Сибірна Н.О. Вплив L-аргінину на активність NO-синтази та процес окисної модифікації білків при стрептозотоциновому діабеті у щурів // *Експерим. та клін. фізіологія і біохімія.* – 2005. – № 4. – С. 43–49.
2. Бродяк І.В., Сибірна Н.О. Вплив аміногуанідину на процес окисної модифікації білків за умов експериментального цукрового діабету у щурів // *Укр. біохім. журн.* – 2006. – **78**, № 5. – С. 114–119.
3. Гомоляко І.В., Тумасова К.П. Ультроструктурна характеристика нейтрофільних гранулоцитів крові у хворих на хронічний холецистит // *Вісн. морфології.* – 1999. – № 5 (1). – С. 6–8.
4. Карімов І.З. Окисна модифікація білків і перекисне окислення ліпідів у розвитку метаболічної інтоксикації при патології // *Лаб. діагностика.* – 2005. – № 1. – С. 7–13.
5. Мазуров Д.В. Изучение моноцитов периферической крови человека // *Клеточ. иммунология.* – 2001. – № 3. – С. 21–23.
6. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях // *Биохимия.* – 2000. – **65**, № 4. – С. 485–503.
7. Покровский В.И., Виноградов Н.А. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства // *Терап. архив.* – 2005. – № 1. – С. 82–87.
8. Рябов Г.А., Азизов Ю.М., Пасечник И.Н. и др. Окислительный стресс и эндогенная интоксикация у больных в критических состояниях // *Вестн. интенсив. терапии.* – 2002. – № 4. – С. 4–7.
9. Сагач В.Ф., Присяжна О.Д., Ткаченко М.М., Коцюрба А.В. Вплив L-аргінину на функціональну активність ендотелію за умов експериментального цукрового діабету // *Фізіол. журн.* – 2005. – **51**, № 2. – С. 3–7.
10. Федорова М.З., Левин В.Н. Метод комплексного исследования геометрии, площади поверхности, резервных возможностей мембраны и осморегуляции лейкоцитов крови // *Клин. лаб. диагностика.* – 1997. – № 11. – С. 44–46.
11. Хоменко Р.М., Грузов М.А., Шляховенко В.С.



- Содержание и ультраструктура CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов крови здоровых людей и больных сахарным диабетом 1-го типа // Физиол. журн. – 1989. – **35**, № 5. – С. 31–37.
12. Bonnefont-Rousselot D., Bastard J.P., Jaudon M.C., Delattre J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance // Diabetes Nutr. Metab. – 2000. – **26**, № 3. – P. 163–176.
13. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // Nature. – 2001. – **414**, № 6865. – P. 813–820.
14. Cerchiaro G.A., Scavone C., Teixeira S. et al. Inducible nitric oxide synthase in rat neutrophils: role of insulin // Biochemical. Pharmacol. – 2001. – **62**, № 3. – P. 357–362.
15. Ceriello A. Hyperglycaemia: the bridge between non-enzymatic glycation and oxidative stress in the pathogenesis of diabetic complications // Diabetes Nutr. Metab. – 1999. – **12**, № 1. – P. 42–46.
16. Dailey M. O. Expression of T lymphocyte adhesion molecules: regulation during antigen-induced T cell activation and differentiation // Crit. Rev. Immunol. – 1998. – **18**. – P. 153–184.
17. Elsner M., Guldbakke B., Tiedge M. et al. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin // Diabetologia. – 2000. – **43**, № 12. – P. 1528–1533.
18. Iori E., Calo L., Valbusa D. et al. Diabetic ketosis activates lymphomonocyte-inducible nitric oxide synthase // Diabet Med. – 2002. – **19**, № 9. – P. 777–783.

*Львів. нац.ун-т ім. Івана Франка*  
*E-mail: brodyak\_iryna@yahoo.com*

*Матеріал надійшов до*  
*редакції 08.07.2008*