

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВІДНОВЛЮВАЛЬНОЇ ДІЇ
НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ПЕПТИДІВ НА
ЕРИТРОЦИТИ І ЛЕЙКОЦИТИ ДОНОРСЬКОЇ КРОВІ
ЛЮДИНИ ПІСЛЯ ХОЛОДОВОГО ВПЛИВУ ЗА
МОРФОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ КЛІТИН
INVESTIGATION OF THE RESTORATIVE EFFECT OF
LOW MOLECULAR WEIGHT PEPTIDES ON
ERYTHROCYTES AND LEUKOCYTES OF HUMAN DONOR
BLOOD AFTER COLD EFFECTS BY MORPHOLOGICAL
PARAMETERS OF CELLS**

Жаркова Є.Є., Моїсєєва Н.М., Горіна О.Л., Гулевський О.К.

E. Zharkova, N. Moiseeva, O. Gorina, O. Gulevsky

*Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України,
м.Харків, Україна*

Evzharkova92@gmail.com

Annotation. The restorative effect of a low molecular weight peptides on erythrocytes and leukocytes in donated blood of man on such indicators as the morphology. The perspective of using the rehabilitative environments based on low molecular weight peptides is shown.

На теперішній час розробка ефективних реабілітаційних середовищ для тривалого збереження крові в умовах низьких температур є актуальною задачею в області трансфізіології. У зв'язку з чим ведеться пошук оптимального складу компонентів для створення таких розчинів, дія яких запобігала структурно-морфологічним змінам в клітинах при холодовому впливі. Враховуючи дані літератури щодо досліджень в цьому напрямку, у якості таких сполук особливу увагу заслуговують регуляторні нейропептиди, отримані з головного мозку гібернуючих тварин, зокрема лей-енкефалін і низькомолекулярна фракція з кордової крові людини. Відомо, що морфологічні ознаки є одними з показників структурно-функціональних змін в клітинах, які зазнали холодової дії. Таким чином, в наших дослідженнях було досліджено вплив лей-енкефаліну і низькомолекулярної фракції

з кордової крові на морфологічні показники лейкоцитів і еритроцитів донорської крові людини після холодного стресу.

Донорську кров людини на різних строках гіпотермічного зберігання (+4°C) інкубували при 37°C протягом години з низькомолекулярною фракцією кордової крові людини, кінцева концентрація фракції 0,6 мг/мл. Для моделювання холодного стресу і ініціації апоптозу лейкоцитів використовували наступні температурні режими і час експозиції клітин: предінкубація клітин 15 хв. при +37°C, 15 хв. у льодовій бані та 15 хв. при температурі +37°C. Нейропептид вносили в суспензію в передінкубаційний період в концентрації 10⁻⁹Моль. Аналіз морфологічних змін в клітинах оцінювали за допомогою світової мікроскопії, а наявність апоптотичних змін (пікноз, фрагментація ядра та блебінг) та некрозу оцінювали за допомогою флуоресцентної мікроскопії (барвник Hoechst 33342 та пропідій йодид (PI)).

Результати проведених досліджень показали, що після холодного стресу кількість лейкоцитів з ознаками апоптозу за морфологічними показниками становила 63±0,2%, а некротичних клітин 18±0,5%. Після додавання в інкубаційне середовище нейропептиду Лей-енкефаліну кількість апоптичних клітин вищезгаданого (p<0,05) зменшувалась до 49±0,4%, а некротичних не перевищувала 10±0,05%. При використанні Hoechst 33342 в контрольній групі кількість клітин з фрагментацією ядра становила 58±0,3%, кількість PI-позитивних клітин складала 15±0,1%. Після додавання в інкубаційне середовище нейропептиду кількість апоптичних і некротичних клітин зменшувалась до 50±0,5% і 12±0,1% відповідно.

Після гіпотермічного зберігання донорської крові було встановлено, що додавання низькомолекулярної фракції кордової крові стимулює відновлення «робочої» форми еритроцитів – дискоцитів (на 40-50% у залежності від строків гіпотермічного зберігання) та знижує кількість сфероцитів (неперехідних форм) у 2-3 рази. Виходячи з вище сказаного, в проведених

дослідженнях була виявлена антиапоптична дія нейропептиду Лей-енкефаліну і відновлююча дія низькомолекулярної кордової крові на лейкоцитах і еритроцитах донорської крові, які зазнали холодового стресу. Показана перспективність досліджень щодо вивчення механізмів дії низькомолекулярних пептидів з метою розробки на їх основі реабілітуючих середовищ.