

УДК: 616-06: 616-092.9

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.4681651>

**РОЛЬ 2,3-ДИФОСФОГЛИЦЕРАТА ЭРИТРОЦИТУ У ПАТОГЕНЕЗИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ.
АНАЛІЗ СПОСОБІВ КОРЕКЦІЇ**

Сірман Я.В., Прейс Н.І., Савицький І.В.

*ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ
України»*

*Одеський міжнародний медичний університет
yanasirman@gmail.com, natalieye@ukr.net, farmakod@ukr.net*

**РОЛЬ 2,3 ДИФОСФОГЛИЦЕРАТА ЭРИТРОЦИТОВ В
ПАТОГЕНЕЗЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ
РЕТИНОПАТИИ. АНАЛИЗ СПОСОБОВ КОРРЕКЦИИ**

Сирман Я.В., Прейс Н.И., Савицкий И.В.

*ГП «Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта
МЗ Украины»*

Одесский международный медицинский университет

**ROLE OF 2,3-BISPHOSPHOGLYCERATE IN THE PATHOGENESIS
OF EXPERIMENTAL DIABETIC RETINOPATHY.
ANALYSIS OF CORRECTION METHODS**

Sirman Ya.V. , Preys N.I. , Savitsky I.V.

Ukrainian Research Institute of Transport Medicine, Ministry of Health of Ukraine

Summary/Резюме

The aim of the study is to analyze changes in the level of 2,3-bisphosphoglycerate of erythrocytes as a marker of hypoxia in the development of endothelial dysfunction in experimental diabetic retinopathy and various methods of its correction. The experiment was carried out on white Wistar rats weighing 180-200 g.

Our results indicate the development of hypoxia already on the thirtieth day of the development of experimental diabetic retinopathy, followed by the progression of pathological changes on the sixtieth and one hundred and eightieth days of the study, as evidenced by a decrease in the level of 2,3-bisphosphoglycerate in the 2nd group ($p < 0.001$), the most pronounced at the 3rd stage. When analyzing the data of group No. 3, it was found that the correction of the pathological state with the help of hypoglycemic agents has a positive effect, but does not allow for a pronounced correction of the pathological development of hypoxia. The results of the 4th group indicate that the attraction of the donor of nitric oxide and aflibercept to the correction of diabetic retinopathy corrects hypoxic shifts and helps to restore the physiological pathway of nitric oxide synthesis, the most pronounced effect is observed on the one hundred and eightieth day of the experiment, but the normative values cannot be achieved. It is traced that the correction of the modeled pathological state by reducing hyperglycemia, the introduction of aflibercept and bromfenac (group No. 5) gives positive results, but less pronounced than the addition of L-arginine solution to the complex

correction. It was revealed that in rats in which diabetic retinopathy was modeled with subsequent correction of hyperglycemia, administration of aflibercept, L-carnitine and bromfenac (group No. 6), there is a pronounced tendency towards normalization of the studied marker of hypoxia in comparison with the previous methods considered, but the level of 2,3-bisphosphoglycerate does not reach standard values. The data obtained allow us to assert that the correction method chosen in the 7th group (correction of hyperglycemia, administration of aflibercept, L-arginine solution and citicoline) more pronouncedly normalizes the level of 2,3-bisphosphoglycerate of erythrocytes in comparison with other groups of our experiment, its effectiveness is pronounced already on the thirtieth day, increasing to the 60s and 180s.

Keywords: *experimental diabetic retinopathy, hypoxia, 2,3 erythrocyte diphosphoglycerate, correction, metformin, aflibercept, L-arginine, citicoline, L-carnitine, bromfenac.*

Метою дослідження є аналіз змін рівню 2,3-діфосфогліцерату еритроцитів, як маркера гіпоксії, у розвитку дисфункції ендотелію при експериментальній діабетичній ретинопатії та різних способах її корекції. Експеримент проводилося на білих щурах лінії Вістар масою 180-200 г.

Отримані нами результати свідчать про розвиток гіпоксії уже на 30-у добу розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії з подальшим прогресуванням патологічних змін на 60-у та 180-у добу дослідження, про що свідчить зниження рівню 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у 2-й групі ($p < 0,001$), максимально виражене на 3-му етапі. При аналізі даних групи №3 встановлено, що корекція патологічного стану за допомогою гіпоглікемічних засобів має позитивний вплив, але не дозволяє виражено скоригувати патологічний розвиток гіпоксії. Результати 4-ї групи свідчать про те, що залучення донатора оксиду азоту та афліберцепта до корекції діабетичної ретинопатії коригує гіпоксичні зрушення та сприяє відновленню фізіологічного шляху синтезу оксиду азоту, максимально виражений ефект спостерігається на 180-у добу експерименту, але нормативних значень досягти не вдається. Прослідковується, що корекція змодельованого патологічного стану шляхом зниження гіперглікемії, введення афліберцепта та бромфенаку (група №5) дає позитивні результати, але менш виражені, аніж залучення до комплексної корекції розчину L-аргініну. Виявлено, що у щурів у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку (група №6) наявна виражена тенденція до нормалізації досліджуваного маркера гіпоксії у порівнянні з попередніми розглянутими способам, але рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів не досягає нормативних значень. Отримані дані дозволяють стверджувати, що спосіб корекції, обраний у 7-й групі (корекцію гіперглікемії, введення афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну) більш виражено нормалізує рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів порівняно з іншими групами нашого експерименту, його результативність виражено проявляється уже на 30-у добу, збільшуючись до 60-ї та 180-ї діб.

Ключові слова: *експериментальна діабетична ретинопатія, гіпоксія, 2,3 діфосфогліцерат еритроцитів, корекція, метформін, афліберцепт, L-аргінін, цитиколін, L-карнітин, бромфенак.*

Целью исследования является анализ изменений уровня 2,3 дифосфоглице-

рата эритроцитов, как маркера гипоксии в развитии дисфункции эндотелия при экспериментальной диабетической ретинопатии и различных способах ее коррекции. Эксперимент проводился на белых крысах линии Вистар массой 180-200 г.

Полученные нами результаты свидетельствуют о развитии гипоксии уже на тридцатые сутки развития экспериментальной диабетической ретинопатии с последующим прогрессированием патологических изменений на шестидесятые и сто восьмидесятые сутки исследования, о чем свидетельствует снижение уровня 2,3 дифосфоглицерата эритроцитов во 2-й группе ($p < 0,001$), максимально выраженное на 3-м этапе. При анализе данных группы №3 установлено, что коррекция патологического состояния с помощью гипогликемических средств имеет положительное влияние, но не позволяет выразить скорректировать патологическое развитие гипоксии. Результаты 4-й группы свидетельствуют о том, что привлечение донатора оксида азота и афлиберцепта к коррекции диабетической ретинопатии корректирует гипоксические сдвиги и способствует восстановлению физиологического пути синтеза оксида азота, максимально выраженный эффект наблюдается на сто восьмидесятые сутки эксперимента, но нормативных значений достичь не удается. Прослеживается, что коррекция смоделированного патологического состояния путем снижения гипергликемии, введение афлиберцепта и бромфенака (группа №5) дает положительные результаты, но менее выражены, чем добавление к комплексной коррекции раствора L-аргинина. Выявлено, что у крыс в которых моделировали диабетической ретинопатией с последующей коррекцией гипергликемии, введением афлиберцепта, L-карнитина и бромфенака (группа №6) имеется выраженная тенденция к нормализации исследуемого маркера гипоксии по сравнению с предыдущими рассмотренными способами, но уровень 2,3 дифосфоглицерата эритроцитов не достигает нормативных значений. Полученные данные позволяют утверждать, что способ коррекции, избранный в 7-й группе (коррекция гипергликемии, введение афлиберцепта, раствора L-аргинина и цитиколина) более выражено нормализует уровень 2,3 дифосфоглицерата эритроцитов по сравнению с другими группами нашего эксперимента, его результативность выражено проявляется уже на тридцатый день, увеличиваясь до 60-х и 180-х суток.

Ключевые слова: экспериментальная диабетическая ретинопатия, гипоксия, 2,3 дифосфоглицерат эритроцитов, коррекция, метформин, афлиберцепт, L-аргинин, цитиколин, L-карнитин, бромфенак.

Вступ

Цукровий діабет (ЦД) є нагальною проблемою XXI століття через невпинне прогресування частоти захворюваності як 1-го та 2-го типів хвороби [1]. Нажаль, несвоєчасне звернення хворих до спеціалістів призводить до того, що близько 50 % пацієнтів починають лікування вже маючи ознаки судинної патології [2]. Саме через судинні ураження Американська кардіологічна асоціація занесла ЦД 2-го типу до серцево-судинних захворювань (ССЗ) [3]. Ураження судин вигляді мікро- та макроангіопатій,

які є ключовими патогенетичними ланками багатьох різновидів серцево-судинної патології, у першу чергу обумовлені пошкодженням ендотелію судин [4]. Слід підкреслити, що за даними ВООЗ цукровий діабет вважається пандемією XXI століття. У 2017 році за даними Міжнародної діабетичної федерації (IDF), кількість хворих на цукровий діабет складає по всьому світі 424,9 млн, що являє собою всесвітню проблему людства [5]. Макро- та мікросудинні ускладнення суттєво погіршують протікання цукрового діабету та зумовлюють па-

тогенез ендотеліальної дисфункції [5].

Велике значення під час розвитку цих ускладнень відіграють компенсаторні механізми гіпоксії, які пов'язані із транспортом кисню крові у тканинних капілярах. Цей механізм полягає в зменшенні спорідненості гемоглобіну по відношенню до кисню (зрушення кривої дисоціації оксигемоглобіну праворуч) і є ефективним засобом проти вторинної тканинної гіпоксії та при цьому не потребує енергії [6-9]. Основним механізмом адаптації до гіпоксії є шлях анаеробного окислення глюкози у еритроцитах та зростання вмісту 2,3 діфосфогліцерату — аллостеричного регулятора спорідненості гемоглобіну до кисню [10, 11]. Транспортування киснем гемоглобіну пов'язане із рівнем 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів. Також цей маркер є резервним джерелом для синтезу аденозинтрифосфату в разі його дефіциту у клітині [12]. Слід зазначити, що кількісна зміна органічних фосфатів у клітині призводить до комплексу структурних перебудов еритроцитарних мембран [6, 10, 11].

Синтез оксиду азоту відбувається із амінокислоти L-аргініну та молекули кисню. Під час реакції окислення NO-синтаза каталізує утворення у рівних кількостях NO та L-цитруліну. Киснева концентрація — важливий фактор, що зумовлює активність NO-синтази, оскільки молекулярний кисень є її ко-субстратом [13, 14].

Мета дослідження: аналіз змін рівню 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів, як маркера гіпоксії, у розвитку дисфункції ендотелію при експериментальній діабетичній ретинопатії та різних способах її корекції.

Матеріали та методи

Дослідження проводилося на білих щурах лінії Вістар масою 180-200 г. Відповідно до задач тварини були розподілені на 7 груп:

1-а група — 60 інтактних тварин;

2-а група — 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію без подальшої корекції.

3 група — 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії.

4 група — 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта та розчину L-аргініну.

5 група — 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта та бромфенаку.

6 група — 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку.

7 група — 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну.

Цукровий діабет 2-го типу та діабетичну ретинопатію моделювали за допомогою інтраперитонального введення стрептозотоцину (Sigma, США) розчиненому в 0.1 М цитратному буфері з pH 4,5 [15]. Дозу стрептозотоцину 55 мг/кг маси тварини розділили на два введення. Введенню стрептозотоцину передувала високожирова дієта протягом 28-и діб [16].

Дози препаратів:

Гіпоглікемічний препарат — метформін (Merck Sante, виробництво Франція) — у дозі 300 мг/кг маси у питтєвій формі [17] на 0,9 % розчині натрія хлориду через шприц з внутрішньошлунковим зондом щоденно.

Введення розчину L-аргініну, який є донатором NO, (CIMECTA, виробництво Китай, стандарт якості USP32)

здійснювалось шляхом внутрішньо шлункового введення розчину L-аргініну на 0,9 % розчині натрія хлориду в дозі 500 мг/кг [18] через шприц з внутрішньошлунковим зондом. Об'єм розчину залежав від маси тварини і не перевищував 1 мл. Препарат вводили 1 раз на добу до вранішнього годування, щоденно протягом 10 днів [18].

Афліберцепт (anti-VEGF терапію) вводили у формі субкон'юнктивальних ін'єкцій у дозі 0,08 мл (25 мг/мл) [19].

Бромфенак — інстиляції 0,09 % розчину очних крапель 1 раз на добу [20].

L-карнітін ("Sigma", США) вводили у формі водного розчину через шприц з внутрішньошлунковим зондом у дозі 25 мг/100 г маси тварини [21, 22].

Цитиколін — 81,8 мг/кг (0,33 мл/кг) вводили внутрішньом'язово 1 раз на добу.

Виведення тварин із експерименту проводилося у три етапи:

1-й етап дослідження — 30-а доба після початку моделювання цукрового діабету;

2-й етап дослідження — 60-а доба після початку моделювання цукрового діабету;

3-й етап дослідження — 180-а доба після початку моделювання цукрового діабету.

Тварин виводили з досліду шляхом декапітації під легким ефірним наркозом згідно з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених Наказом МОЗ України № 249 від 01.03.2012 та Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (зі змінами від 15.12.2009р та від 16.10.2012р).

Здійснювали забір крові з ретро-орбітального венозного сплетіння, яке лежить в орбіті позаду очного яблука. Прокол здійснювали круговими рухами

скляною піпеткою з відтягнутим капіляром, вістря якого сточене під кутом 45°. Проколювали кон'юнктивальний мішок у медіальному куті ока між очним яблуком та орбітою. Після проколу піпетку вводили на глибину до 2-4 мм за очне яблуко. Контроль потрапляння у венозне сплетіння — наповнення капіляра піпетки кров'ю (Дьяконов А.В., Хрикіна І.С., Хегай А.А. та ін., 2013).

Активність 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів визначали спектрофотометричним методом.

Статистична обробка отриманих результатів

Для виявлення зміни у досліджуваних показниках між різними групами та на різних етапах нами були використані параметричні статистичні методи, в основу яких покладено оперування з параметрами статистичного розподілу (середнім та дисперсією).

Використані методи розраховані на нормально розподілені дані, тому ми виконали перевірку всіх даних на нормальність за допомогою критерію асиметрії та ексцесу Є.І.Пустильника. Згідно цього критерію розподіл не відрізняється від нормального, якщо обчислені емпіричні значення асиметрії та ексцесу не перевищують критичних, тобто $A_{\text{емп}} < A_{\text{кр}}$, $E_{\text{емп}} < E_{\text{кр}}$, де $A_{\text{емп}}$ та $E_{\text{емп}}$ — обчислені значення асиметрії та ексцесу, а

$$A_{\text{кр}} = 3 \cdot \sqrt{\frac{6 \cdot (n-1)}{(n+1) \cdot (n+3)}},$$
$$E_{\text{кр}} = 5 \cdot \sqrt{\frac{24 \cdot n \cdot (n-2) \cdot (n-3)}{(n+2)^2 \cdot (n+3) \cdot (n+5)}}$$

відповідно їх критичні значення [23].

Всі дані, які ми розглядаємо, виявилися нормально розподіленими, тому можна попарно порівнювати середні значення вибірок. Зауважимо, що в по-

дальших порівняннях ми виконуємо порівняння у незалежних вибірках. Це будуть порівняння між різними групами тварин або порівняння між тєю ж групою тварин (але так як у вибірках не має відповідності між тваринами, то вони теж будуть незалежними).

Перш ніж порівнювати середні значення двох вибірок, слід з'ясувати, чи однорідні в них дисперсії. Для цього слід виконати перевірку на гомоскедастичність (однорідність дисперсій).

Статистичні гіпотези були такі:

H_0 : дисперсія у групі 1 не відрізняється від дисперсії у групі 2.

H_1 : дисперсія у групі 1 більша за дисперсію у групі 2.

Гіпотези у критерії напрямлені, тому і критерій односторонній. Гіпотезу H_0 відхиляють, коли $F_{емп} > F_{кр}$. Про це ж свідчить і p -значення — імовірність похибки відхилити нульову гіпотезу, коли вона правильна. У різних експериментах приймають H_0 , коли p -значення (встановлений рівень значущості), і відхиляють H_0 , коли p -значення $>$ у всіх подальших розрахунках ми обрали стандартний рівень значущості.

Порівняння середніх виконується за допомогою F -критеріє Стюдента. При порівнянні середніх напрямлені гіпотези будуть такі:

H_0 : середнє групи 1 не відрізняється від середнього групи 2.

H_1 : середнє групи 1 більше за середнє групи 2.

Для прийняття рішення абсолютне значення обчисленого порівнюють з одностороннім критичним. Якщо $F_{емп} > F_{кр}$, то нульову гіпотезу відхилити не можна. Тут аналогічно можна робити висновок і по p -значенню.

Всі тести ми будемо виконувати у статистичному пакеті PASW Statistics 18. Будемо використовувати процедуру t -

критерію для незалежних вибірок, яка відразу виконує порівняння дисперсій і середніх.

У даному статистичному пакеті використовується тест Ливиня для порівняння дисперсій. Відповідно для порівняння середніх потрібно використовувати значення першого рядка, де передбачається рівність дисперсій. У даному рядку ми маємо двостороннє p -значення рівне 0, що менше за обраний рівень 0,05. У подальших порівняннях ми будемо ділити двостороннє значення на 2, якщо воно не буде рівне 0, для того, щоб отримати значення одностороннє, так як нас цікавить напрямлена гіпотеза.

У подальших тестах ми будемо відмічати, чи відрізняються середні значення. Якщо ж вони відрізняються, то потрібно вказати цю різницю. Результати t -тесту дають відповідь про рівність або відмінність середніх значень, але вони не дають можливості точно вимірювати різницю між середніми значеннями. Зауважимо, що ця різниця є досить умовною. Цю різницю ми будемо розраховувати у відсотках.

Таким чином ми продемонстрували порівняння середніх значень між різними групами тварин.

Результати дослідження та їх обговорення

Типовий патологічний процес — гіпоксія, виникає внаслідок пригнічення транспорту кисню до клітин та тканин організму чи як результат порушення його використання під час реакції біологічного окислення [24].

Гіпоксія викликає суттєві зрушення у метаболізмі еритроцитів. У першу чергу це стосується активації гліколізу, розвитку окислювального стресу та накопичення 2,3 діфосфогліцерату. Під час гіпоксії відбувається вихід заліза з білкових комплексів у середині клітини, що у свою чергу активує окислювальний

стрес [25]. Із розвитком гіпоксії відбуваються зміни у фосфорилуванні тирозинових залишків білка еритроцитів, які впливають на внутрішньоклітинну передачу сигналів, об'єм клітин та їх структуру та на мембранний транспорт [26]. За цих умов окислювальний стрес суттєво впливає на активність гліцераальдегід-3-фосфатдегідрогенази [25, 27].

Збільшення кількості дезоксигемоглобіну пригнічує резистентність еритроцитів до окислювального стресу. Самі еритроцити спроможні регулювати утворення супероксиданіонів в залежності від напруження кисню та конформації гемоглобіну. Остання визначає перехід основних шляхів метаболізму глюкози в еритроцитах, що сприяє резистентності їх до окислювального стресу. Також конформація гемоглобіну регулює разом із обміном глюкози метаболізм тіолів в еритроцитах. При гіпоксії у еритроцитах відбувається зниження відновлюваного потенціалу системи глутатіону [25, 28]. Розвиток окислювального стресу призводить до пригнічення транспортної функції еритроцитів та спроможності гемоглобіну зв'язувати кисень внаслідок утворення метгемоглобіну. Окислювальне пошкодження відбувається і у мембранних білках, які підтримують цілісність мембрани та приймають участь у транспорті іонів [25, 29]. 2,3-діфосфогліцерат є побічним продуктом гліколізу (шунт Rapoport-Luebering), який накопичується при анаеробному метаболізмі [30].

Результати дослідження динаміки рівню 2,3 -діфосфогліцерату еритроцитів у крові тварин, яким моделювали діабетичну ретинопатію та на тлі

її корекції представлені у таблиці 1.

У другій групі, в якій щурам моделювали патологічний стан без корекції, виявлене значне — на 65,03 % ($p < 0,001$) підвищення досліджуваного маркера гіпоксії на 1-му етапі. На 2-му етапі його рівень на 66,41 % ($p < 0,001$) вищий за значення інтактних тварин, а на 3-му етапі підвищення вмісту 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів є ще більш збільшеним — він на 70,22 % ($p < 0,001$) вищим порівняно з даними щурів 1-ї групи. На третьому етапі показник є вищим на 14,94 % ($p < 0,001$) порівняно з першим, і на 11,05 % ($p < 0,05$) порівняно з другим етапом, тобто можемо стверджувати, що з тривалістю терміну розвитку ДР без корекції гіпоксія невпинно прогресує.

У 3-й групі, в якій корекція проводилась лише гіпоглікемічним препаратом, на першому етапі виявлене підвищення рівню 2,3-ДФГ на 60,82 % ($p < 0,001$) порівняно з 1-ю групою, а у порівнянні з 2-ю групою рівень показника є нижчим на 12,05 % ($p < 0,05$). На другому етапі вміст досліджуваного маркера є патологічно підвищеним на 60,30 % ($p < 0,001$) відносно інтактної групи, порівняно з групою №2 рівень є нижчим на 18,19 % ($p < 0,01$). На третьому етапі вміст 2,3 діфосфогліцерату більший на 61,45 % ($p < 0,001$) порівняно з 1-ю гру-

Таблиця 1

Рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ($M \pm m$), (ммоль/мл)

Етапи Групи	I етап	II етап	III етап
1 група	1,21 ± 0,02	1,22 ± 0,03	1,22 ± 0,03
2 група	3,47 ± 0,13	3,63 ± 0,15	4,08 ± 0,11
3 група	3,1 ± 0,1	3,07 ± 0,15	3,15 ± 0,13
4 група	2,91 ± 0,14	2,7 ± 0,12	2,4 ± 0,13
5 група	3,03 ± 0,14	2,97 ± 0,12	2,95 ± 0,12
6 група	2,30 ± 0,13	2,11 ± 0,13	2,01 ± 0,13
7 група	2,05 ± 0,14	1,68 ± 0,11	1,27 ± 0,12

пою, і на 29,45 % ($p < 0,001$) нижчим відносно групи без корекції. Поетапної динаміки у 3-й групі статистично не виявлено.

У групі №4 на 1-у етапі виявлено, що рівень 2,3 ДФГ є вищим на 58,23 % ($p < 0,001$), ніж у крові інтактної групи. Порівняно з групою, в якій модлювали ДР без корекції рівень маркера менш підвищений на 19,45 % ($p < 0,01$). Статистично значущих відмінностей порівняно з 3-ю групою не встановлено. На другому етапі рівень маркера на 54,76 % ($p < 0,001$) вищий порівняно з 1-ю групою, в той же час він на 34,69 % ($p < 0,001$) нижчий порівняно з групою №2 і на 13,96 % ($p < 0,05$) нижчий відносно групи №3. На третьому етапі рівень показника продовжує частково нормалізовуватися — він на 21,04 % ($p < 0,01$) нижчий порівняно з першим етапом. Відносно 1-ї групи на третьому етапі рівень 2,3 ДФГ є вищим на 49,38 % ($p < 0,001$), порівняно з 2-ю групою він нижчий на 69,98 % ($p < 0,001$), а у порівнянні з групою №3 — менший на 31,31 % ($p < 0,001$).

У 5-й групі на першому етапі рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів є збільшеним на 59,95 % ($p < 0,001$). Порівняно з групою №2 рівень маркера є нижчим на 14,53 % ($p < 0,05$). Відносно 3-ї та 4-ї груп статистично значущих відмінностей не виявлено. На другому етапі рівень даного показника вищий на 58,94 % ($p < 0,001$) відносно інтактної групи, а порівняно з групою №2 він нижчий на 22,25 % ($p < 0,001$). Як і на попередньому етапі, відмінностей відносно 3-ї та 4-ї груп не виявлено. На третьому етапі рівень 2,3 ДФГ вищий на 58,84 % ($p < 0,001$) порівняно з групою №1, відносно групи №2 він нижчий на 38,22 % ($p < 0,001$). Відносно 3-ї групи відмінностей не виявлено, а порівняно з 4-ю групою корекція є менш результативною — рівень 2,3 ДФГ вищий на 18,69 % ($p < 0,01$).

У групі №6 на першому етапі рівень досліджуваного маркера гіпоксії є вищим на 47,30 % ($p < 0,001$) відносно значень інтактних тварин. Порівняно з групою без корекції рівень є нижчим на 50,71 % ($p < 0,001$), відносно 3-ї групи — менш виражений на 34,5 % ($p < 0,001$), відносно 4-ї — на 26,17 % ($p < 0,01$), а порівняно з п'ятою групою — менший на 31,59 % ($p < 0,001$). На другому етапі рівень 2,3 ДФГ на 42,3 % ($p < 0,001$) вищий за значення інтактних щурів, і на 71,77 % ($p < 0,001$) нижчий відносно результатів 2-ї групи. Порівняно з 3-ю групою вміст маркера у крові щурів 6-ї групи є нижчим на 45,33 % ($p < 0,001$), порівняно з 4-ю — на 27,52 % ($p < 0,01$), і на 40,51 % ($p < 0,001$) меншим відносно групи №5. На третьому етапі рівень показника гіпоксії на 39,41 % ($p < 0,001$) вищий за значення інтактних щурів, а у порівнянні з групою без корекції — нижчий на 103,43 % ($p < 0,001$). Порівнюючи з попередніми групами, в яких коригували ДР, встановлено, що результативність способу корекції у 6-й групі є кращою на 57,15 % ($p < 0,001$) порівняно з 3-ю групою, на 19,68 % ($p < 0,05$) порівняно з 4-ю (в 4-ю групі використовували донатор оксиду азоту, який зменшує прояви гіпоксії), і на 47,18 % ($p < 0,001$) менший ніж у 5-й групі. Поетапних статистично значущих відмінностей не виявлено.

У 7-й групі на першому етапі встановлено, що рівень досліджуваного маркера є на 40,71 % ($p < 0,001$) більшим, ніж у крові інтактних щурів. Відносно групи зі змодельованою ДР без корекції вміст 2,3 ДФГ є нижчим (ближчим до нормативних значень) на 69,54 % ($p < 0,001$), відносно 3-ї групи — на 51,31 % ($p < 0,001$), відносно 4-ї — на 41,93 % ($p < 0,001$), і відносно 5-ї групи — на 48,04 % ($p < 0,001$). Порівняно з результатами групи №6 статистично значущих відмінностей не виявлено. На другому етапі виявлене вира-

жене (на 21,75 % ($p < 0,01$) зниження рівню 2,3 ДФГ еритроцитів порівняно з попереднім етапом. Відносно групи №1 рівень показника є підвищеним на 27,49 % ($p < 0,001$), а порівняно з групою №2 — нижчим на 115,87 % ($p < 0,001$). Аналізуючи відмінності від попередніх груп з корекцією встановлено наступне: рівень є нижчим на 82,64 % ($p < 0,001$) порівняно з 3-ю групою, на 60,27 % ($p < 0,001$) порівняно з 4-ю, на 76,58 % ($p < 0,001$) у порівнянні з 5-ю групою, і на 26,68 % ($p < 0,01$) наближений до норми порівняно з даними групи №6. На третьому етапі результативність запропонованої корекції є максимально вираженою — рівень 2,3 дифосфогліцератом еритроцитів нормалізувався до значень інтактної групи (статистично значущих відмінностей між 1-ю та 7-ю групами не виявлено). У порівнянні з даними групи №2 результат є кращим на 221,24 % ($p < 0,001$), порівняно з 3-ю групою — на 148,15 % ($p < 0,001$). Відносно 4-ї групи рівень маркера є нижчим на 88,99 % ($p < 0,001$), відносно 5-ї на 132,42 % ($p < 0,001$), і порівняно з 6-ю групою — менший на 57,91 % ($p < 0,001$). Проводячи поетапний аналіз виявлено що на третьому етапі рівень маркера гіпоксії є на 61,17 % ($p < 0,001$) нижчим порівняно з 1-м етапом і на 32,38 % ($p < 0,001$) порівняно з 2-им.

Характеризуючи динаміку досліджуваного маркера у групах з корекцією варто зауважити, що найбільш результативною була схема терапії у 7-й групі, дані 6-ї групи також свідчать про її ефективність, але дещо менш виражену. Корекція залучена у 5-й групі є недостатньою, у 4-ї позитивний вплив (більш виражений ніж у 5-й) обумовлений залученням донатора оксиду азоту. Результати 3-ї групи свідчать про те, що однієї корекції гіперглікемії є недостатньо для корекції усіх патологічних зрушень, спричинених цукровим діабетом та діабетичною ретинопатією.

Варто зауважити, що у метаболізмі людини для оптимального транспорту кисню у крові окрім гемоглобіну значну роль відіграє 2,3-дифосфогліцерат (2,3-ДФГ). Останній регулює трансформування оксигемоглобіну у гемоглобін і кисень в залежності від парціального тиску кисню у легенях. У фізіологічних умовах активність 2,3-ДФГ у людей пригнічена. Збільшення його концентрації спостерігається під час гіпоксії та при інших патологічних процесах [31]. Зменшення парціального кисню у крові призводить до активації гліколізу, збільшення рівня лактату, зниженню рН середовища, що сприяє посиленню синтезу АТФ та 2,3 дифосфогліцерату у еритроцитах із подальшим підвищенням їх концентрації. 2,3-ДФГ шляхом приєднання до молекули гемоглобіну сприяє віддачі останнім кисню, що призводить до збільшення його парціального тиску у капілярах та послабленню гіпоксії, тобто активуються процеси компенсації гіпоксії в організмі [31]. Важливо забезпечити фізіологічний транспорт кисню до тканин організму при захворюваннях пов'язаних із гіпоксією: анемією, цукровим діабетом, хронічною серцевою недостатністю та ін. Під час посилення дисоціації оксигемоглобіну шляхом медикаментозної корекції можна суттєво збільшити надходження кисню кров'ю до капілярів. У зв'язку з цим актуальним стає використання лікарських засобів, які активують нормалізацію 2,3-ДФГ, а отже посилюють кисневу напругу в крові [31-33].

З часу відкриття судинних ефектів оксиду азоту і його ролі як регулятора багатьох метаболічних процесів, цей напрям наукових досліджень став пріоритетним для медико-біологічних наук [34-36]. NO здатен регулювати як фізіологічні, так і патофізіологічні процеси та взаємозв'язок між системними ефектами в умовах норми і патології [37-40].

Оксид азоту приймає активну участь у процесах адаптації організму до гіпоксії [41-44]. На стан оксиду азоту впливають фізіологічні кисеньзв'язуючі властивості крові, тому що гемоглобін є однією із ключових мішеней оксиду азоту [34]. Пул NO може змінювати споріднення гемоглобіну до кисню через внутрішньоеритроцитарні механізми регуляції, кисневозалежний характер утворення оксиду азоту, дію S-нітрозогемоглобіну та нітрозилгемоглобіну, регуляцію судинного тону, транспорт та утилізацію кисню. Подальше вивчення ролі оксиду азоту у патогенезі багатьох захворювань, як універсального регулятора багатьох клітинних реакцій та його зміни під час розвитку гіпоксії дасть пояснення розвитку патологічних ланок цілого ряду хвороб [34].

Кисневозв'язуючі властивості крові впливають на систему L-аргінін-NO, і остання може визначати функціональні властивості гемоглобіну через внутрішньоеритроцитарні механізми регуляції завдяки спорідненості до кисню, регуляції судинного тону та дії пероксинітриту [45, 46]. Оксид азоту і його похідні — пероксинітрити приймають участь у модифікації гемоглобіну і спорідненості до кисню на рівні еритроцитів [47]. Донори пероксинітриту і оксиду азоту синтезовані з пероксиду водню та нітриту впливають на місцезнаходження кривої дисоціації оксигемоглобіну. Зазначені сигнальні молекули здатні по-різному моделювати спорідненість гемоглобіну до кисню в залежності від кислотності середовища [45].

Висновки

1. Отримані нами результати свідчать про розвиток гіпоксії уже на 30-у добу розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії з подальшим прогресуванням патологічних змін на 60-у та 180-у добу дослідження, про що свідчить зниження рівню 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у 2-й групі ($p < 0,001$), максимально виражене на 3-му етапі.
2. При аналізі даних групи №3 встановлено, що корекція патологічного стану за допомогою гіпоглікемічних засобів має позитивний вплив, але не дозволяє виражено скоригувати патологічний розвиток гіпоксії.
3. Результати 4-ї групи свідчать про те, що залучення донатора оксиду азоту та афліберцепта до корекції діабетичної ретинопатії коригує гіпоксичні зрушення та сприяє відновленню фізіологічного шляху синтезу оксиду азоту, максимально виражений ефект спостерігається на 180-у добу експерименту, але нормативних значень досягти не вдається.
4. Прослідковується, що корекція змодельованого патологічного стану шляхом зниження гіперглікемії, введення афліберцепта та бромфенаку (група №5) дає позитивні результати, але менш виражені, ніж залучення до комплексної корекції розчину L-аргініну.
5. Виявлено, що у щурів у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку (група №6) наявна виражена тенденція до нормалізації досліджуваного маркера гіпоксії у порівнянні з попередніми розглянутими способами, але рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів не досягає нормативних значень.
6. Отримані дані дозволяють стверджувати, що спосіб корекції, обраний у 7-й групі (корекцію гіперглікемії, введення афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну) більш виражено нормалізує рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів порівняно з іншими групами нашого експерименту, його результативність виражено проявляється уже на 30-у

добу, збільшуючись до 60-ї та 180-ї діб.

Література

1. Ендотеліальна дисфункція в патогенезі ускладнень цукрового діабету Повідомлення І. Ендотеліальна дисфункція: етіологія, патогенез і методи діагностики А.І. Гоженко, Г.С. Кузнецова, К.С. Кузнецова, Т.М. Биць, А.Б. Сула. *Ендокринологія*. 2017, Т 22, № 2. С.171-181.
2. Сухарева О.Ю., Шестакова М.В. Современные стандарты и рекомендации терапии сахарного диабета 2: фокус на метформин // *Consilium medicum*. — 2009. — Т. 11, № 12. — С. 18-24.
3. Steinmetz A, Fenselau S., Schrezenmeir Y. Treatment of dyslipoproteinemia in the metabolic syndrome // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. — 2001. — Vol. 109, № 4. — P. 548-559.
4. Кузнецова Е.С., Кузнецова А.С., Шухтин В.В., Гоженко А.И. Особенности осморегулирующей функции почек у больных сахарным диабетом 2 типа // *Український журнал нефрології і діалізу*. — 2015. — № 4 (49). — С. 21-26.
5. Куркин Д.В., Логвинова Е.О., Бакулин Д.А., Волотова Е.В., Тюренок И.Н. Эндотелиопротекторные свойства нового агониста рецептора *grp119* (дипиарон) у животных с хроническим нарушением мозгового кровообращения и экспериментальным сахарным диабетом // *Современные проблемы науки и образования*. — 2018. — № 4.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27935> (дата обращения: 06.09.2020).
6. Matvieienko Mariia, Baranova Nadiia, Boiko Olena, Arora Suresh. (2020) Features of the Functional State of Red Blood Cells During Hypoxia in Patients with Polytrauma *World Science*. 6 (58), Vol.2. doi: 10.31435/rsglobal_ws/30062020/7111
7. Рябов Г. А. Гипоксия критических состояний / Г. А. Рябов. — М.: Медицина, 1988. — 287 с.
8. Xu F, et al. Effect of hypoxia and hyperoxia on cerebral blood flow, blood oxygenation, and oxidative metabolism. *J Cereb Blood Flow Metab* 2012; 32 (10): 1909–1918. DOI: 10.1038/jcbfm.2012.93
9. Jensen M L F, Vestergaard M B, Tshnnesen P, Larsson H B W, Jennum Poul J. Cerebral blood flow, oxygen metabolism, and lactate during hypoxia in patients with obstructive sleep apnea *Sleep*. — 2018. — V.41., Issue 3. P.1-10. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsy001>
10. Дерюгина А. В., Бояринов Г. А., Симутис И. С., Бояринова Л. В., Азов Н. А. Морфологические и метаболические показатели эритроцитов при обработке озоном эритроцитной массы. *GENERAL REANIMATOLOGY*. 2018; 14 (1): 40-49. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-1-40-49
11. Крылов В.Н., Дерюгина А.В., Симутис И.С., Бояринов Г.А., Сенюрина А.И. Содержание АТФ и 2,3ДФГ в эритроцитах при консервации и воздействии озона. *Биомедицина*. 2014; 2: 37–42. URL: <http://scbmt.ru/mag/2014/2014-02.pdf#page=39>
12. Жегунов Г.Ф., Денисова О.Н., Землянских Н.Г. Криоконсервирование и сохранность эритроцитов животных. *Проблемы криобиологии*. 2005; 15 (3): 566-569. URL: <http://dSPACE.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/138173/107-Zhegunov.pdf?sequence=117>
13. Shah V., Lyford G., Gores G. et al. Nitric oxide in gastrointestinal health and disease // *Gastroenterology*. — 2004. — 126. — P. 903–913
14. Ткач С.М., Пучков К.С., Кузенко Ю.Г. Биологические эффекты оксидов азота в желудочно-кишечном тракте. *Сучасна гастроентерологія*. 2013. № 4 (72). С.118-128.
15. Пасечникова Н. В. Защитное действие кверцетина и липоата на функциональные группы белков сетчатки при моделировании диабета / Н.В. Пасечникова, О.А. Мороз // *Офтальмологічний журнал*. — 2015. — № 3. — С. 76-81
16. Экспериментальная модель сахарного диабета 2-го типа у крыс, вызванная диетой с высоким содержанием жиров и стрептозотоцином в низкой дозе / О.А. Кайдаш, В.В. Иванов, А.И. Венгеровский, Е.Е. Буйко, И.А. Щепеткин // *Бюллетень сибирской медицины*. — 2020. — №19 (2). — С.41-47.
17. Роль метформина в профилактике диабетической нефропатии при экспериментальном сахарном диабете 2 типа / В.К. Байрашева, А.Ю. Бабенко, Ю.В. Дмитриев, А.А. Байрамов, С.Г. Чефу, И.С. Шаталов, А.Н. Арефьева, И.Ю. Пчелин, Н.В. Худякова, П.Г. Алиев, Е.Н. Гринева // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. — 2016. — №15 (3). — С.70-80.

18. Покровский М.В. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита окиси азота / М.В. Покровский, Т.Г. Покровская В.И. Корчаков // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2008. — № 71 (2). — С. 29–31.
19. Efficacy of Subconjunctival Aflibercept Versus Bevacizumab for Prevention of Corneal Neovascularization in a Rat Model / Orly Gal-Or 1, Eitan Livny, Ruti Sella, Yael Nisgav, Dov Weinberger, Tami Livnat, Irit Bahar // *Cornea* — 2016. — Vol. 3. — Issue 7. — P. 991-996.
20. Павлова О. Н. Исследование динамики активности каталазы в сыворотке крови крыс при механическом воздействии на гематоофтальмический барьер / О. Н. Павлова, О. Н. Гуленко, Р. Г. Каримова и др. // *Международный научно-исследовательский журнал*. — 2020. — № 5 (95) Часть 1. — С.153—158.
21. Быков И.Л. Влияние L-карнитина на метаболические нарушения при экспериментальной недостаточности ацил-КоА дегидрогеназ/ И.Л. Быков // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. — 2004. — Том 67 — № 6. С.48-52.
22. Дзугкоев С. Г. Влияние коэнзима Q 10, афобазола и L-карнитина на эндотелиальную функцию у крыс с экспериментальным сахарным диабетом / С.Г. Дзугкоев, Ф.С. Дзугкоева, Н.В. Гуманова, В.А. Метельская // *Кубанский научный медицинский вестник*. — 2012. — №3 (132). — С.48-51.
23. Лупан І.В., Авраменко О.В., Акбаш К.С. Комп'ютерні статистичні пакети: навчально-методичний посібник. — 2-е вид. — Кіровоград: «КОД» 2015. — 236 с.
24. Шевченко Ю.Л. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника. СПб.: ООО «ЭЛБИ-СПб», 2000, с.12.
25. Муравлёва Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Бакирова Р.Е., Ключев Д.А., Муравлёв В.К. Характеристика эритроцитов при хронической обструктивной болезни легких // *Современные проблемы науки и образования*. — 2014. — № 5.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14879> (дата обращения: 10.12.2020).
26. Hypoxia-Induced Post-Translational Changes in Red Blood Cell Protein Map of Newborns/ B. Marzocchi, L. Ciccoli, C. Tani et al. // *Pediatric Research*. 2005. 58. P. 660–665.
27. Defective adaption of erythrocytes during acute hypoxia injury in an elderly population / D. de Gonzalo-Calvo., K. Neitzert, M. Fernandez, I. Vega-Naredo et al. // *Gerontol A Biol Sci MedSci*. 2011. 66 (4). P.376-384
28. Hypoxia limits antioxidant capacity in red blood cells by altering glycolytic pathway dominance /S. C. Rogers, A. Said, D. Corcuera et. Al. // *The FASEB Journal*. 2009. Vol. 23. N. 9. P.3159-3170
29. Torres-Ramos Y.D., Montoya-Estrada A, Hicks G.J.J. Erythrocyte dysfunction in tissue hypoxia in patients with COPD and its relationship with oxidative stress // *Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Mex.* 2009.22 (4). P. 356-365.
30. Клиническая анестезиология. Книга вторая. Автор Дж. Эдвард Морган-мл., Мэ-гид С. Михаил. Издательство: Бинном. 2014. 358 с.
31. Способ повышения напряжения кислорода в крови пациентов с хронической сердечной недостаточностью. В. Кукес, А. Прокофьев, А. Жестовская, В. Смирнов, Л. Павлова, О. Горошко, О. Чеча. *Врач*. 2015 №11. С.83-86
32. Байшукурова А.К. Образование 2,3-ДФГ в эритроцитах при экспериментальных воздействиях, изменяющих условия транспорта кислорода. Дис. ... канд. биол. наук. Ленинград, 1983; 135 с.
33. Рядовой Г.В. Содержание 2,3-ДФГ и его влияние на сродство к гемоглобину кислорода у больных после операции на открытом сердце // *Анестезиол. и реаниматол.* — 1990; 5: 31–4.
34. Лановенко И. И., Коцюруба А. В., Гашук А. П. Взаимодействие оксида азота и кислородтранспортной функции крови при гемической гипоксии гемолитического генеза. *Доповіди Національної академії наук України*, 2009, № 8. С.189-193.
35. Furchgott R. F., Zawadzki J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine // *Nature*. — 1980. — 288, No 5789. — P. 373–376.
36. Лановенко І. І. Оксид азоту — універсальний регулятор клітинних функцій // *Гематологія і переливання крові. Міжвід. зб.* — 2008. — 2, вип. 34. — С. 227–234.
37. Уразаев А. Х., Зефирова А. Л. Физиологическая роль оксида азота // *Успехи физиол. наук*. — 1999. —30, № 1. — С. 54–72.
38. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Реутов В. П. Оксид азота и NO-синтазы в организ-

ме млекопитающих при различных функциональных состояниях // Биохимия. — 2000. — 65, № 4. — С. 485–503.

39. Фролькіс В. В., Безруков В. В., Мала Л. Т. та ін. Механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему та патогенетичне лікування захворювань серцево-судинної системи // Кровообіг та гемостаз. — 2003. — № 2. — С. 42–53.
40. Голиков П. П. Оксид азота в клинике неотложных состояний. — Москва: Медпрактика-М, 2004. — 180 с.
41. Середенко М. М., Дударев В. П., Лановенко И. И. и др. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии. — Киев: Наук. думка, 1987. — 200 с.
42. LeCras T. D., McMurtry I. F. Nitric oxide production in the hypoxic lung // Amer. J. Physiol. — 2001. — 280, No 4. — P. 1575–1582.
43. Сагач В. Ф., Доломан Л. Б., Коцюрuba А. В. та ін. Збільшений вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в крові мешканців високогір'я // Фізіол. журн. — 2002. — 48, № 5. — С. 3–8.
44. Лановенко І. І., Гашук Г. П., Коцюрuba А. В., Яцуньчак М.Ю. Зміни і взаємодія оксиду азоту і кисневотранспортної функції крові при гемічній гіпоксії, спричиненій залізодефіцитом // Гематологія і переливання крові. Міжвід. зб. — 2008. — 2, вип. 34. — С. 234–242.
45. В. В. Зинчук, Т. Л. Степура. Внутриэритроцитарная система регуляции сродства гемоглобина к кислороду. Новости медико-биологических наук. 2013. т.7, №1. С.45-56
46. Зинчук В. В. //Успехи физиологических наук. 2003. №4 (2).с. 33-45.
47. Зинчук В. В. /I Кардиология.2009. Т.49 (7-S). С. 81-89

References

1. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of complications of diabetes Message I. Endothelial dysfunction: etiology, pathogenesis and diagnostic methods Al Gojenko, G.C. Кузнецова, К.С. Кузнецова, Т.М. Beat, А.В. Wort. Endocrinology. 2017, T 22, № 2. S.171-181.
2. Sukhareva OY, Shestakova MV Modern standards and recommendations for the treatment of diabetes mellitus 2: focus on metformin // Consilium medicum. - 2009. - V. 11, № 12. - P. 18-24.
3. Steinmetz A, Fenselau S., Schrezenmeir Y. Treatment of dyslipoproteinemia in the metabolic syndrome // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. - 2001. - Vol. 109, № 4. - P. 548-559.
4. Kuznetsova ES, Kuznetsova AS, Shukhtin VV, Gozhenko AI Peculiarities of osmoregulatory function of the kidneys in patients with type 2 diabetes mellitus // Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis. - 2015. - № 4 (49). - P. 21-26.
5. Kurkin DV, Logvinova EO, Bakulin DA, Volotova EV, Tyurenkov IN Endothelioprotective properties of a new agonist of the gpr119 receptor (dipiaron) in animals with chronic cerebral circulatory disorders and experimental diabetes mellitus // Modern problems of science and education. - 2018. - № 4.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27935> (access date: 06.09.2020).
6. Matvieienko Maria, Baranova Nadiia, Boiko Olena, Arora Sukesh. (2020) Features of the Functional State of Red Blood Cells During Hypoxia in Patients with Polytrauma World Science. 6 (58), Vol.2. doi: 10.31435 / rsglobal_ws / 30062020/7111
7. Ryabov GA Hypoxia of critical states / GA Ryabov. - М.: Медицина, 1988. - 287 с.
8. Xu F, et al. Effect of hypoxia and hyperoxia on cerebral blood flow, blood oxygenation, and oxidative metabolism. J Cereb Blood Flow Metab 2012; 32 (10): 1909–1918. DOI: 10.1038 / jcbfm.2012.93
9. Jensen M L F, Vestergaard M B, Tshnnesen P, Larsson H B W, Jennum Poul J. Cerebral blood flow, oxygen metabolism, and lactate during hypoxia in patients with obstructive sleep apnea Sleep. - 2018. - V.41., Issue 3. P.1-10. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsy001>
10. Deryugina AV, Boyarinov GA, Simutis IS, Boyarionova LV, Azov NA Morphological and metabolic parameters of erythrocytes during ozone treatment of erythrocyte mass. GENERAL REANIMATOLOGY. 2018; 14 (1): 40-49. DOI: 10.15360 / 1813-9779-2018-1-40-49
11. Krylov V.N., Deryugina AV., Simutis I.S., Boyarinov G.A., Senyurina AI. Content of ATP and 2,3DPG in erythrocytes during conservation and exposure to ozone. Biomedicine. 2014; 2: 37-42. URL: <http://scbmt.ru/mag/2014/2014-02.pdf#page=39>
12. Zhegunov G.F., Denisova O.N., Zemlyanskikh N.G. Cryopreservation and preservation of

- animal erythrocytes. Cryobiology problems. 2005; 15 (3): 566-569. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/138173/107-Zhegunov.pdf?sequence=1>
13. Shah V., Lyford G., Gores G. et al. Nitric oxide in gastrointestinal health and disease // *Gastroenterology*.— 2004.— 126.—P. 903-913
 14. Weaver S.M., Puchkov K.S., Kuzenko Yu.G. Biological effects of nitrogen oxides in the gastrointestinal tract. *Suchasna gastroenterology*. 2013. No. 4 (72) .S.118-128.
 15. Pasechnikova NV The protective effect of quercetin and lipoate on the functional groups of retinal proteins in diabetes modeling. Pasechnikova, O.A Moroz // *Ophthalmological journal*. - 2015. - No. 3. - P. 76-81
 16. Experimental model of type 2 diabetes mellitus in rats caused by a diet high in fat and streptozotocin in a low dose / O.A. Kaydash, V.V. Ivanov and A.I. Vengerovsky, E.E. Buyko, I.A. Shchepetkin // *Bulletin of Siberian Medicine*. - 2020. - No. 19 (2). - S.41-47.
 17. The role of metformin in the prevention of diabetic nephropathy in experimental type 2 diabetes mellitus. Bayrasheva AYu. Babenko, Yu.V. Dmitriev, AA Bayramov, S.G. Chefu, I.S. Shatalov, AN. Arefieva, I. Yu. Pchelin, N.V. Khudyakova, P.G. Aliev, E.N. Grineva // *Regional blood circulation and microcirculation*. - 2016. - No. 15 (3). - S. 70-80.
 18. Pokrovsky M.V. Endothelioprotective effects of L-arginine in modeling nitric oxide deficiency / M.V. Pokrovsky, T.G. Pokrovskaya V.I. Korchakov // *Experimental and Clinical Pharmacology*. - 2008. - No. 71 (2). - S. 29-31.
 19. Efficacy of Subconjunctival Aflibercept Versus Bevacizumab for Prevention of Corneal Neovascularization in a Rat Model / Orly Gal-Or 1, Eitan Livny, Ruti Sella, Yael Nisgav, Dov Weinberger, Tami Livnat, Irit Bahar // *Cornea* - 2016. - Vol. 3. - Issue 7. - P. 991-996.
 20. Pavlova ON Study of the dynamics of catalase activity in the blood serum of rats under mechanical action on the blood-ophthalmic barrier / ON Pavlova, ON Gulenko, RG Karimova et al. // *International research journal*. - 2020. - No. 5 (95) Part 1. - P.153-158.
 21. Bykov I.L. Influence of L-carnitine on metabolic disorders in experimental deficiency of acyl-CoA dehydrogenases / I.L. Bykov // *Experimental and Clinical Pharmacology*. -2004. -Volume 67 - No. 6. P.48-52.
 22. Dzugkoev SG Influence of coenzyme Q 10, afobazole and L-carnitine on endothelial function in rats with experimental diabetes mellitus. Dzugkoev, F.S. Dzugkoeva, N.V. Gumanova, V.A. Metelskaya // *Kuban Scientific Medical Bulletin*. - 2012. - No. 3 (132). - S.48-51.
 23. Lupan IV, Avramenko OV, Akbash KS Computer statistical packages: a basic methodical guide. - 2nd type. - Kirovohrad: "CODE" 2015. - 236 p.
 24. Shevchenko Yu.L. Hypoxia. Adaptation, pathogenesis, clinic. SPb.: OOO "ELBI-SPb", 2000, p. 12.
 25. Muravleva L.E., Molotov-Luchanskiy VB, Bakirova R.E., Klyuev D.A., Muravlev V.K. Characteristics of erythrocytes in chronic obstructive pulmonary disease // *Modern problems of science and education*. - 2014. - No. 5.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14879> (date of access: 10.12).
 26. Hypoxia-Induced Post-Translational Changes in Red Blood Cell Protein Map of Newborns / B. Marzocchi, L. Ciccoli, C. Tani et al. // *Pediatric Research*. 2005. 58. P. 660-665.
 27. Defective adaptation of erythrocytes during acute hypoxia injury in an elderly population / D. de Gonzalo-Calvo., K. Neitzert, M. Fernández, I. Vega-Naredo et al. // *Gerontol A Biol Sci MedSci*. 2011.66 (4). P.376-384
 28. Hypoxia limits antioxidant capacity in red blood cells by altering glycolytic pathway dominance / S. C. Rogers, A Said, D. Corcuera et. Al. // *The FASEB Journal*. 2009. Vol. 23. N. 9. P.3159-3170
 29. Torres-Ramos Y.D., Montoya-Estrada A, Hicks G.J.J. Erythrocyte dysfunction in tissue hypoxia in patients with COPD and its relationship with oxidative stress // *Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Mex*. 2009.22 (4). P. 356-365.
 30. *Clinical anesthesiology*. Book two. Written by J. Edward Morgan Jr., Magid S. Michael. Publisher: Binom. 2014. 358 s.
 31. A method for increasing oxygen tension in the blood of patients with chronic heart failure. V. Kukes, A. Prokofiev, A. Zhestovskaya, V. Smirnov, L. Pavlova, O.

- Goroshko, O. Checha Doctor. 2015 No. 11. S.83-86
32. Bayshukurova AK. The formation of 2,3-DPG in erythrocytes under experimental influences that change the conditions of oxygen transport. Dis. ... Cand. biol. sciences. Leningrad, 1983; 135 p.
33. Private G.V. The content of 2,3-DPG and its effect on the oxygen hemoglobin affinity in patients after open heart surgery // Anesteziol. and reanimatol. - 1990; 5: 31-4.
34. Lanovenko II, Kotsyuruba AV, Gaschuk AP Interaction of nitric oxide and oxygen transport function of blood in hemic hypoxia of hemolytic genesis. Dopovidi National Academy of Sciences of Ukraine, 2009, No. 8. P.189-193.
35. Furchgott R. F., Zawadzki J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine // Nature. - 1980. - 288, No 5789. - P. 373-376.
36. Lanovenko I. I. Nitrogen oxide - a universal regulator of cellular functions // Hematology and blood transfusion. Mizhvid. zb. - 2008. - 2, vip. 34. - S. 227-234.
37. Urazaev A Kh., Zefirov AL Physiological role of nitric oxide // Advances fiziol. sciences. - 1999. -30, No. 1. - P. 54-72.
38. Menshchikova EB, Zenkov NK, Reutov VP Nitric oxide and NO-synthase in mammals under various functional states // Biochemistry. - 2000. - 65, No. 4. - P. 485-503.
39. Frolkis VV, Bezrukov VV, Mala LT and others. Mechanisms of action of nitric oxide on the cardiovascular system and pathogenetic treatment of diseases of the cardiovascular system // Blood circulation and hemostasis. -2003. - № 2. - P. 42-53.
40. Golikov PP Nitric oxide in the clinic of emergencies. - Москва: Медпрактика-М, 2004. - 180 с.
41. Seredenko MM, Dudarev VP, Lanovenko II, etc. Mechanisms of development and compensation of hemic hypoxia. - Kiev: Science. opinion, 1987. - 200 p.
42. LeCras T. D., McMurtry I. F. Nitric oxide production in the hypoxic lung // Amer. J. Physiol. - 2001. -280, No 4. - P. 1575-1582.
43. Sagach VF, Doloman LB, Kotsyuruba AV and others. Increased content of stable metabolites of nitric oxide in the blood of the inhabitants of the highlands // Physiol. magazine. - 2002. - 48, № 5. - P. 3-8.
44. Lanovenko I. I., Gashchuk GP, Kotsyuruba AV, Yatsulchak M.Yu. Changes and interaction of nitric oxide and oxygen transport function of blood in hemic hypoxia caused by iron deficiency // Hematology and blood transfusion. Interdepartmental. zb. - 2008. - 2, vip. 34. - P. 234-242.
45. VV Zinchuk, TL Stepuro. Intraerythrocyte system of regulation of hemoglobin affinity to oxygen. News of medical and biological sciences. 2013. v.7, №1.S.45-56
46. Zinchuk VV // Successes of physiological sciences. 2003. №4 (2) .p. 33-45.
47. Zunchuk VV / I Cardiology.2009. T.49 (7-S). Pp. 81-89

*Впервые поступила в редакцию 02.12.2020 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*