

Влияние состава среды регидратации и ионофора нигерицина на уровень постгипертонического лизиса эритроцитов человека

О.А. ОЛЕЙНИК, В.В. РАМАЗАНОВ, И.В. БОНДАРЕНКО, В.А. БОНДАРЕНКО

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Инкубация эритроцитов в гипертонических растворах (дегидратация) и перенос их в изотонический раствор (регидратация) приводит к лизису клеток – постгипертоническому лизису (ПГЛ), который служит моделью криоповреждения клеток при замораживании-оттаивании [3].

В работе использовали эритроциты донорской крови человека группы II. Эритроциты дегидратировали в среде, содержащей 1,5 моль/л хлорида натрия в течение 45 минут при 22°C, регидратацию проводили путём перенесения дегидратированных клеток в изотонические среды различного состава (хлорид натрия, сахароза) на 3 минуты при 22°C. Ионофор нигерицин в конечной концентрации 50 мкмоль/л добавляли в среду регидратации. Уровень гемолиза определяли спектрофотометрическим методом.

В процессе осмотического сжатия клетка аккумулирует различные ионы, в частности, это может происходить посредством активации Na^+ - K^+ - 2Cl^- котранспортёра, Na^+ - H^+ -обменника [2] и механизма HCO_3^- / Cl^- -обмена [1, 2]. Известно [2], что в процессе осмотического набухания клетки освобождают ионы хлора и калия в результате активации K^+ - Cl^- котранспорта для того, чтобы предотвратить дальнейшее поступление воды и увеличение их объёма. Кроме того, может происходить параллельная активация K^+ - H^+ -обменника и HCO_3^- / Cl^- -обмена [2]. В момент регидратации эритроцит начинает резко увеличивать свой объём при поступлении воды, сопровождающей перераспределение ионов между клеткой и средой. Следовательно, можно предположить, что изменение концентрации анионов хлорида в среде регидратации может служить регулятором постгипертонической чувствительности эритроцитов.

Показано (рис. 1), что уровни ПГЛ в изотонических регидратирующих средах, содержащих различные количества хлорида натрия и сахарозы (рН 7,4) различается: с увеличением концентрации неэлектролита уровень гемолиза падает от 80 до 3-4%. В этом случае можно предположить, что быстрый выброс анионов хлора из клетки в сахарозной регидратирующей среде выступает

как элемент механизма защиты клеток от набухания.

В условиях ПГЛ происходит увеличение объёма клеток вследствие поступления воды в процессе регидратации. Можно предположить, что включение катионов натрия внутрь эритроцитов на этапе гипертонической инкубации будет увеличивать их чувствительность к ПГЛ.

Для проверки этого предположения в наших экспериментах был использован ионофор нигерицин, который при встраивании в мембрану образует каналы для катионов калия и натрия, обеспечивая при этом их движение по концентрационным градиентам. Полученные данные показывают, что постгипертоническая чувствительность эритроцитов в сахарозной среде после гипертонической инкубации клеток в растворах, содержащих 1,5 моль/л хлорида натрия в присутствии и при отсутствии ионофора нигерицина, отличается (рис. 2). Присутствие нигерицина в гипертонической среде вызывает увеличение чувствительности эритроцитов к регидратации по сравнению с контролем: уровень гемолиза при этом составляет 45 %, а в контроле – 5 %. Это указывает на то, что поступление катионов натрия внутрь клеток сенсibiliзирует эритроциты к ПГЛ.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что уровень постгипертонического

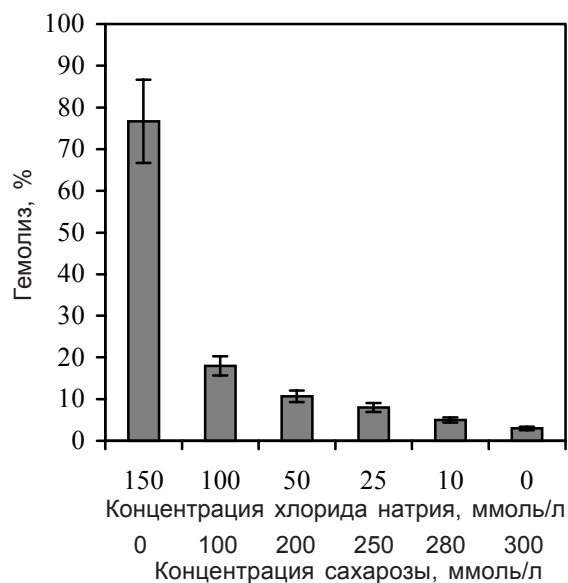


Рис. 1. Уровень ПГЛ эритроцитов, дегидратированных в среде, содержащей 1,5 моль/л хлорида натрия, в регидратирующих средах с различным соотношением хлорида натрия и сахарозы, рН 7,4.

Адрес для корреспонденции: Олейник О.А., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-41-35, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

повреждения эритроцитов определяется внутриклеточным ионным составом, который влияет на транспортные процессы на этапе регидратации. Важным фактором, влияющим на постгипертоническую чувствительность эритроцитов, является способность эритроцитарной мембраны контролировать перераспределение анионов из внеклеточной среды внутрь клетки и наоборот.

Литература

1. *Bernhardt I., Hall A.C., Ellory J.C.* Transport pathways for monovalent cations through erythrocyte membranes // *Studia biophysica.* – 1988. – Vol. 126, N1. – P. 5-21.
2. *Lang F., Busch G.L., Ritter P. et al.* Functional significance of cell volume regulatory mechanisms // *Physiol. rev.* – 1998. – Vol. 78, N1. – P. 247-305.
3. *Pegg D.E., Diaper M.P.* On the mechanism of injury to slowly frozen erythrocytes // *Biophys. J.* – 1988. – Vol. 54, N3. – P. 471-488.

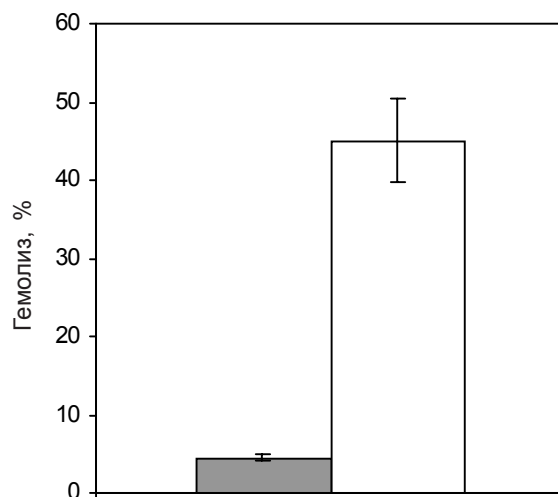


Рис 2. Чувствительность контрольных и обработанных нигерицином (50 мкмоль/л) дегидратированных эритроцитов, к регидратации в сахарозной среде (0,3 моль/л): ■ – контроль; □ – нигерицин.