
<https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.04.099>

УДК 547.455.623:612.111:577.352.4

**К.А. Семіонова, О.Є. Ніпот, Н.А. Єршова,
О.О. Шапкіна, Н.М. Шпакова**

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків

E-mail: nipotel71@gmail.com

Температура, осмоляльність і глюкоза як фактори, що визначають стійкість еритроцитів до постгіпертонічного шоку

Представлено академіком НАН України А.М. Гольцевим

Досліджено вплив глюкози на чутливість еритроцитів людини і кролика до дії постгіпертонічного шоку. Встановлено, що рівень постгіпертонічного гемолізу еритроцитів людини і кролика залежить від середовища дегідратації і збільшується зі зростанням концентрації солі в ньому. Аналіз чутливості цих клітин до дії постгіпертонічного шоку показав, що еритроцити кролика є більш стійкими: при 37 °С рівень пошкодження еритроцитів кролика принаймні вдвічі нижчий, ніж клітин людини; при 0 °С вказаний ефект менш виражений.

Рівень постгіпертонічного гемолізу еритроцитів, попередньо оброблених глюкозою, визначається ендогенними (видова належність еритроцитів) і екзогенними факторами (концентрація модифікатора та умови постгіпертонічного шоку). Щодо еритроцитів людини глюкоза здатна знижувати рівень постгіпертонічного гемолізу, що перевищує 50 %. Якщо за умов постгіпертонічного шоку глюкоза у високій концентрації (5 %) ефективна при 37 і 0 °С, то в низькій (0,6 %) — тільки при 0 °С. Щодо еритроцитів кролика глюкоза здатна знижувати рівень постгіпертонічного гемолізу тільки у разі застосування у високій концентрації (5 %) за умов постгіпертонічного шоку при 37 °С.

Припускається, що глюкоза утворює водневі зв'язки з цитоплазматичними білками, що перешкоджає зв'язуванню з ними іонів натрію. Це запобігає надмірному надходженню іонів у клітину на етапі дегідратації і, відповідно, розвитку пошкодження еритроцитів на стадії регідратації. Передбачається, що дотримання близьконульових температур під час розморожування еритроцитів людини і видалення кріопротекторів дасть змогу використовувати менші концентрації глюкози для досягнення захисного ефекту і запобігання її токсичній дії на клітини.

Ключові слова: еритроцит, постгіпертонічний шок, дегідратація, регідратація, глюкоза, температура.

Протягом багатьох років глюкоза залишається компонентом гемоконсервувальних середовищ, які використовуються для забору і низькотемпературного зберігання еритромаси і цільної крові ("Глюгіцир", SAGM, AS). Вона забезпечує клітинам достатній рівень метаболізму, стабілізує мембрану шляхом утворення водневих зв'язків, поліпшує ступінь вітрифі-

Цитування: Семіонова К.А., Ніпот О.Є., Єршова Н.А., Шапкіна О.О., Шпакова Н.М. Температура, осмоляльність і глюкоза як фактори, що визначають стійкість еритроцитів до постгіпертонічного шоку. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2020. № 4. С. 99—106. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.04.099>

ISSN 1025-6415. Допов. Нац. акад. наук Укр. 2020. № 4: 99—106

кації цитоплазми [1–3]. Це дає можливість підтримувати структурно-функціональні властивості еритроцитів впродовж декількох тижнів. Однак висока концентрація глюкози *in vivo* може викликати небажані зміни, такі як неферментативне глікозування білкових компонентів цитоскелет-мембранного комплексу, гемоглобіну, ферментів та переносників; пероксидне окиснення мембранних ліпідів; зміну морфології і деформаційних властивостей еритроцитів [4, 5]. Виходячи з вищесказаного, становило інтерес дослідити вплив глюкози на постгіпертонічний шок еритроцитів (ПГШ), що є моделлю поведінки кріоконсервованих клітин під час їх відігріву і видалення проникного кріопротектора. Для з'ясування механізму впливу глюкози на еритроцити за умов ПГШ дослідження проводили на еритроцитах людини і кролика, які різняться низкою параметрів, такими як фосфоліпідний склад мембрани, проникність для води, швидкість транспорту глюкози у клітини та деякими іншими [5, 6].

За мету дослідження ставилося вивчення впливу різних концентрацій глюкози (0,6 і 5 %) на постгіпертонічний гемоліз еритроцитів людини та кролика при 37 і 0 °С.

Матеріали і методи. Для досліджень використовували еритроцити з донорської крові людини і кролика. Експерименти проведені відповідно до “Загальних принципів експериментів на тваринах”, схвалених VI Національним конгресом з біоетики (Київ, 2016) і узгоджених з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986). Після видалення плазми еритромасу тричі відмивали шляхом центрифугування при 3000 об/хв протягом 3 хв (центрифуга “ОПн-3У4.2”, Киргизстан) у 10-кратному об'ємі фізіологічного розчину (0,15 моль/л NaCl, 0,01 моль/л фосфатний буфер, рН 7,4). Лейкоцитарну плівку і супернатант видаляли аспірацією. Еритроцити зберігали у вигляді щільного осаду не більше як 4 год при 0 °С. Усі середовища готували на фосфатному буфері (0,01 моль/л, рН 7,4). У дослідженнях використовували реактиви вітчизняного виробництва кваліфікації “хч” і “чда”.

ПГШ здійснювали перенесенням еритроцитів з гіпертонічного розчину (середовище дегідратації; 1,0–2,0 моль/л NaCl) в ізотонічний (середовище регідратації; 0,15 моль/л NaCl) при 37 або 0 °С. Еритроцити інкубували в середовищі дегідратації протягом 20 хв, у середовищі регідратації – 5 хв. Кінцевий гематокрит становив 0,4 %. Обробку еритроцитів глюкозою здійснювали шляхом інкубування клітин у фізіологічному розчині, що містить 0,6 або 5 % глюкози, при 37 °С протягом 2 год. Залишки глюкози видаляли із середовища шляхом центрифугування клітинної суспензії при 1500 об/хв протягом 7 хв. Контрольні клітини були проінкубовані в аналогічних умовах у фізіологічному розчині без додавання глюкози. Після цього еритроцити піддавали дії постгіпертонічного шоку. Рівень гемолізу еритроцитів визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 543 нм і виражали у відсотках щодо 100 %-го гемолізу. За 100 % приймали рівень поглинання проби, в яку додавали тритон X-100 (“Merck”, Німеччина) у концентрації 0,1 %.

Статистичну обробку отриманих експериментальних результатів проводили за допомогою програми “Statistica 6.0” (“StatSoft Inc.”, США), використовуючи критерій Манна – Уїтні. Відмінності вважали значущими при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Для моделювання впливу на клітини факторів кріопошкоджень, що діють на етапі відігрівання клітинної суспензії, використовують ПГШ.

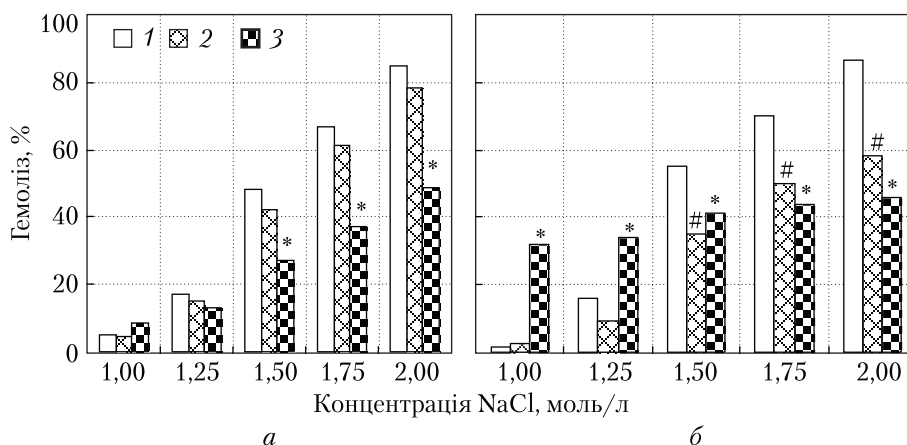


Рис. 1. Вплив глюкози на рівень постгіпертонічного гемолізу еритроцитів людини при варіюванні концентрації NaCl у середовищі дегідратації: 1 – контрольні клітини; 2, 3 – клітини, що були попередньо піддані дії 0,6 % та 5 % глюкози відповідно. Температура експерименту – 37 °C (а) і 0 °C (б). #, * – статистично значущі відмінності порівняно з контролем ($p < 0,05$). Кількість спостережень у кожній групі – 5

В основі ПГШ еритроцитів лежать два процеси: дегідратація за умов інкубації в гіпертонічному середовищі і подальша регідратація, яка розвивається після перенесення клітин в ізотонічний розчин (0,15 моль/л NaCl).

За умов проведення ПГШ при 37 або 0 °C рівень постгіпертонічного гемолізу еритроцитів людини зростає зі збільшенням концентрації солі (NaCl) у середовищі дегідратації (рис. 1). Аналогічна залежність характерна і для клітин, попередньо модифікованих глюкозою, проте рівень пошкодження цих еритроцитів визначається концентрацією модифікатора і температурою ПГШ.

Результати, отримані за умов ПГШ еритроцитів людини при 37 °C, наведені на рис. 1, а. Порівнюючи відповідні значення постгіпертонічного гемолізу контрольних еритроцитів і клітин, модифікованих глюкозою (0,6 %), статистично значущих відмінностей ми не виявили. У разі використання глюкози у високій концентрації (5 %) спостерігалось зниження рівня постгіпертонічного пошкодження модифікованих еритроцитів у 1,7–1,8 раза (коли концентрація NaCl у середовищі дегідратації становила понад 1,25 моль/л).

При температурі 0 °C (рис. 1, б) обробка клітин глюкозою в обох концентраціях (0,6 і 5 %) спричиняла зниження рівня постгіпертонічного гемолізу еритроцитів в 1,5–2,0 раза у варіантах, коли в середовищі дегідратації концентрація NaCl становила 1,5–2,0 моль/л. Застосування більш низьких концентрацій солі у середовищі дегідратації (1,0 і 1,25 моль/л NaCl) дало змогу виявити відмінності в дії глюкози в різних концентраціях. Глюкоза у високій концентрації (на відміну від низької концентрації) підвищувала рівень постгіпертонічного гемолізу клітин (див. рис. 1, б).

Отже, щодо еритроцитів людини глюкоза здатна знижувати рівень постгіпертонічного гемолізу, що перевищує 50 % (див. рис. 1). Якщо за умов ПГШ глюкоза у високій концентрації (5 %) ефективна при 37 і 0 °C, то в низькій (0,6 %) – тільки при 0 °C.

Таким чином, рівень постгіпертонічного гемолізу еритроцитів людини залежить як від ендогенних (видових), так і екзогенних факторів (умови проведення ПГШ – температура і зміна осмоляльності середовища).

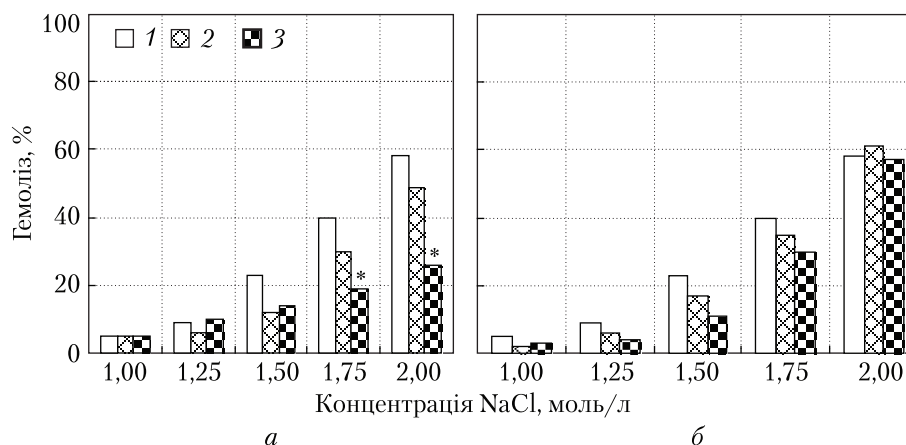


Рис. 2. Вплив глюкози на рівень постгіпертонічного гемолізу еритроцитів кролика при варіюванні концентрації NaCl у середовищі дегідратації: 1 – контрольні клітини; 2, 3 – клітини, що були попередньо піддані дії 0,6 % та 5 % глюкози відповідно. Температура експерименту – 37 °C (а) і 0 °C (б). * – статистично значущі відмінності порівняно з контролем ($p < 0,05$). Кількість спостережень у кожній групі – 5

Раніше проведені дослідження чутливості еритроцитів різних видів ссавців до дії температурно-осмотичного стресу виявили, що найстійкішими є клітини кролика [7, 8]. Тому ми дослідили особливості розвитку постгіпертонічного гемолізу саме еритроцитів кролика за умов дії ПГШ.

Як видно з рис. 2, еритроцити кролика гемолізують за умов ПГШ при 37 і 0 °C, причому рівень постгіпертонічного гемолізу клітин залежить від концентрації солі у середовищі дегідратації. Еритроцити кролика стійкіші до дії ПГШ порівняно з клітинами людини (див. рис. 1, 2). Слід зазначити, що при 37 °C рівень пошкодження еритроцитів кролика принаймні вдвічі нижчий, ніж клітин людини. При 0 °C зазначений ефект менш виражений.

Обробка еритроцитів кролика глюкозою в низькій концентрації (0,6 %) не впливала на їх чутливість до дії ПГШ при 37 °C. У разі застосування глюкози у високій концентрації (5 %) рівень постгіпертонічного гемолізу модифікованих клітин знижувався (за умов інкубації в середовищах дегідратації з концентрацією понад 1,5 моль/л NaCl) (див. рис. 2, а). При температурі 0 °C глюкоза в обох концентраціях не спричиняла зміни рівня постгіпертонічного гемолізу еритроцитів кролика (див. рис. 2, б).

Отже, щодо еритроцитів кролика глюкоза здатна знижувати рівень постгіпертонічного гемолізу у разі застосування у високій концентрації (5 %) за умов ПГШ при 37 °C.

Таким чином, на підставі одержаних результатів можна зробити висновок, що як і у випадку еритроцитів людини, рівень постгіпертонічного гемолізу еритроцитів кролика також залежить від ендогенних (видових) і екзогенних факторів (умови проведення ПГШ – температура і зміна осмоляльності середовища).

Вважається, що плазматична мембрана за фізіологічних умов непроникна для катіонів і проникна для аніонів [9]. Якщо концентрація іонів всередині або зовні клітини критична, катіонні канали в плазматичній мембрані відкриваються, що забезпечує дифузію цих іонів за градієнтом концентрації. Згідно з теорією постгіпертонічного пошкодження клітин К. Muldrew [9], іони, що надходять до клітини з навколишнього гіперосмотичного розчину, зв'язуються з цитоплазматичними білками. Це призводить до зниження концен-

трації катіонів у внутрішньоклітинному розчині і їх подальшого припливу з позаклітинного середовища. На етапі регідратації в клітини надходить вода, внаслідок чого внутрішньоклітинна концентрація солі знижується, білки вивільняють пов'язані з ними іони, що зумовлює збільшення кількості іонів всередині клітини, ніж було спочатку. Внаслідок цього вода продовжує надходити в клітину навіть після того, як вона досягла свого ізотонічного об'єму. Відбувається перевищення значення критичного гемолітичного об'єму клітини і її руйнування. Таким чином, згідно з цією теорією, чим вища концентрація солі у середовищі дегідратації, тим більша кількість катіонів надходить у клітину протягом однакового часу інкубації і тим більша частка клітин руйнується за умов регідратації. Це підтверджується даними, наведеними на рис. 1 і 2, і стосується як еритроцитів людини, так і кролика.

Відомо, що деякі цукри можуть ефективно стабілізувати клітини за умов заморожування або висушування [10]. Вони мають здатність формувати зв'язки з білком під час дегідратації, тим самим підтримуючи його в нативній конформації, зменшуючи як локальну, так і глобальну рухливість. Таким чином, ці сполуки можуть бути використані в складі гемоконсервувальних середовищ для поліпшення якості зберігання еритроцитів людини. Найчастіше для цього використовують непроникні різновиди цукрів. Але для отримання оптимального захисного ефекту їх необхідно завантажувати в цитоплазму [11, 12]. Глюкоза порівняно легко проникає в цитоплазму і також може стабілізувати мембрану заморожених або висушених еритроцитів шляхом утворення водневих зв'язків з фосфоліпідами і білками [13]. Додатковим бонусом є те, що еритроцити можуть утилізувати глюкозу в процесі гліколізу і, таким чином, цей моносахарид може забезпечувати метаболічну функцію під час зберігання еритроцитів.

У випадку ПГШ еритроцитів в основі виявленої захисної дії глюкози, імовірно, лежить її здатність перешкоджати надмірному надходженню іонів натрію до клітини шляхом утворення водневих зв'язків з цитоплазматичними білками. Захисна дія глюкози особливо виражена для еритроцитів людини (див. рис. 1). Еритроцити кролика мають менший рівень захищеності за таких самих умов (див. рис. 2). Це може бути обумовлено меншою проникністю їх мембран для глюкози [6, 14], що не дає змоги цьому моносахариду проявити свою захисну дію повною мірою.

Слід зазначити, що глюкоза може призвести до осмотичних і окиснювальних пошкоджень в еритроцитах під час попередньої обробки і заморожування [4, 5]. Тому, щоб зменшити негативний вплив глюкози на осмотолерантність еритроцитів під час кріоконсервації, дуже важливо підібрати саме такі умови, за яких можливо застосовувати мінімально ефективну концентрацію моносахариду.

Варіювання температурних умов ПГШ еритроцитів показало, що при 0 °С для прояву захисної дії глюкози щодо еритроцитів людини потрібна менша концентрація цієї сполуки порівняно з ПГШ при 37 °С. На підставі цього можна припустити, що дотримання близько нульових температур під час розморожування клітин і видалення проникних кріопротекторів уможливить використання менших концентрацій глюкози для досягнення захисного ефекту, що дасть змогу уникнути її токсичного впливу на еритроцити.

Таким чином, можна зробити висновок, що додавання глюкози в розчини для кріоконсервації еритроцитів не тільки сприяє підтриманню метаболічного статусу клітини, але й захищає еритроцити від впливу високих концентрацій солей на етапі розморожування і переведення еритроцитів в ізотонічні умови.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Cancelas J.A., Dumont L.J., Maes L.A., Rugg N., Herschel L., Whitley P.H., Szczepiokowski Z.M., Siegel A.H., Hess J.R., Zia M. Additive solution-7 reduces the red blood cell cold storage lesion. *Transfusion*. 2015. **55**, № 3. P. 491–498. <https://doi.org/10.1111/trf.12867>
2. Quan G.B., Han Y., Liu M.X., Fang L., Du W., Ren S.P., Wang J.X., Wang Y. Addition of oligosaccharide decreases the freezing lesions on human red blood cell membrane in the presence of dextran and glucose. *Cryobiology*. 2011. **62**, № 2. P. 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2011.01.015>
3. Elliott G.D., Wang S., Fuller B.J. Cryoprotectants: A review of the actions and applications of cryoprotective solutes that modulate cell recovery from ultra-low temperatures. *Cryobiology*. 2017. **76**. P. 74–91. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2017.04.004>
4. Jain S.K. Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells. *J. Biol. Chem.* 1989. **264**. № 35. P. 21340–21345.
5. Resmi H., Pekcetin C., Guner G. Erythrocyte membrane and cytoskeletal protein glycation and oxidation in short-term diabetic rabbits. *Clin. Exp. Med.* 2001. № 4. P. 187–193. <https://doi.org/10.1007/s102380100002>
6. Vrhovac I., Breljak D., Sabolic I. Glucose transporters in the mammalian blood cells. *Period. Biol.* 2014. **116**, № 2. P. 131–138.
7. Шпакова Н.М. Температурна та осмотична стійкість еритроцитів різних видів ссавців: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук / Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. Харків, 2014. 44 с.
8. Семіонова Е.А., Ершова Н.А., Ершов С.С., Орлова Н.В., Шпакова Н.М. Особенности проявления постгипертонического лизиса эритроцитов некоторых млекопитающих. *Проблемы кробиологии и кримиологии*. 2016. **26**, № 1. С. 73–83. <https://doi.org/10.15407/cryo26.01.073>
9. Muldrew K. The salting-in hypothesis of post-hypertonic lysis. *Cryobiology*. 2008. **57**, № 3. P. 251–256. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2008.09.007>
10. Mensinka M.A., Frijlinka H.W., Maarschalk K.V., Hinrichsa W.L.J. How sugars protect proteins in the solid state and during drying (review): Mechanisms of stabilization in relation to stress conditions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2017. **114**. P. 288–295. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.01.024>
11. Eroglu A., Russo M.J., Bieganski R., Fowler A., Cheley S., Bayley H., Toner M. Intracellular trehalose improves the survival of frozen mammalian cells. *Nat. Biotechnol.* 2000. **18**, № 2. P. 163–167. <https://doi.org/10.1038/72608>
12. Kanas T., Acker J.P. Trehalose loading into red blood cells is accompanied with hemoglobin oxidation and membrane lipid peroxidation. *Cryobiology*. 2009. **58**, № 2. P. 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2008.12.003>
13. Quan G.B., Han Y., Liu M.X., Gao F. Effects of pre-freeze incubation of human red blood cells with various sugars on postthaw recovery when using a dextran-rapid cooling protocol. *Cryobiology*. 2009. **59**, № 3. P. 258–267. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2009.08.001>
14. Wagner R., Zimmer G., Lacko L. An interspecies approach to the investigation of the red cell membrane glucose transporter. *Biochim. Biophys. Acta.* 1984. **771**, № 1. P. 99–102. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(84\)90115-9](https://doi.org/10.1016/0005-2736(84)90115-9)

Надійшло до редакції 22.01.2020

REFERENCES

1. Cancelas, J. A., Dumont, L. J., Maes, L. A., Rugg, Herschel, N. L., Whitley, P. H., Szczepiokowski, Z. M., Siegel, A. H., Hess, J. R. & Zia, M. (2015). Additive solution-7 reduces the red blood cell cold storage lesion. *Transfusion*, 55, No. 3, pp. 491-498. <https://doi.org/10.1111/trf.12867>
2. Quan, G. B., Han, Y., Liu, M. X., Fang, L., Du, W., Ren, S. P., Wang, J. X. & Wang, Y. (2011). Addition of oligosaccharide decreases the freezing lesions on human red blood cell membrane in the presence of dextran and glucose. *Cryobiology*, 62, No. 2, pp. 135-144. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2011.01.015>
3. Elliott, G. D., Wang, S. & Fuller, B. J. (2017). Cryoprotectants: A review of the actions and applications of cryoprotective solutes that modulate cell recovery from ultra-low temperatures. *Cryobiology*, 76, pp. 74-91. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2017.04.004>
4. Jain, S. K. (1989). Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells. *J. Biol. Chem.*, 264, No. 35, pp. 21340-21345.

5. Resmi, H., Pekcetin, C. & Guner, G. (2001). Erythrocyte membrane and cytoskeletal protein glycation and oxidation in short-term diabetic rabbits. *Clin. Exp. Med.*, No. 4, pp. 187-193. <https://doi.org/10.1007/s102380100002>
6. Vrhovac I., Breljak, D. & Sabolic, I. (2014). Glucose transporters in the mammalian blood cells. *Period. Biol.*, 116, No. 2, pp. 131-138.
7. Shpakova, N. M. (2014). Temperature and osmotic resistance of erythrocytes of different mammalian species. (Extended abstract of Doctor thesis). Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine, Kharkiv, Ukraine (in Ukrainian).
8. Semionova, Ye. A., Yershova, N. A., Yershov, S. S., Orlova, N. V. & Shpakova, N. M. (2016). Peculiarities of posthypertonic lysis in erythrocytes of several mammals. *Probl. Cryobiol. Cryomed.*, 26, No. 1, pp. 73-83 (in Russian). <https://doi.org/10.15407/cryo26.01.073>
9. Muldrew, K. (2008). The salting-in hypothesis of post-hypertonic lysis. *Cryobiology*, 57, No. 3, pp. 251-256. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2008.09.007>
10. Mensinka, M. A., Frijlinka, H. W., Maarschalk, K. V. & Hinrichsa, W. L. J. (2017). How sugars protect proteins in the solid state and during drying (review): Mechanisms of stabilization in relation to stress conditions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 114, pp. 288-295. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.01.024>
11. Eroglu, A., Russo, M. J., Bieganski, R., Fowler, A., Cheley, S., Bayley, H. & Toner, M. (2000). Intracellular trehalose improves the survival of frozen mammalian cells. *Nat. Biotechnol.*, 18, No. 2, pp. 163-167. <https://doi.org/10.1038/72608>
12. Kanas, T. & Acker, J. P. (2009). Trehalose loading into red blood cells is accompanied with hemoglobin oxidation and membrane lipid peroxidation. *Cryobiology*, 58, No. 2, pp. 232-239. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2008.12.003>
13. Quan, G. B., Han, Y., Liu, M. X. & Gao, F. (2009). Effects of pre-freeze incubation of human red blood cells with various sugars on postthaw recovery when using a dextran-rapid cooling protocol. *Cryobiology*, 59, No. 3, pp. 258-267. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2009.08.001>
14. Wagner, R., Zimmer, G. & Lacko, L. (1984). An interspecies approach to the investigation of the red cell membrane glucose transporter. *Biochim. Biophys. Acta*, 771, No. 1, pp. 99-102. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(84\)90115-9](https://doi.org/10.1016/0005-2736(84)90115-9)

Received 22.01.2020

Е.А. Семионова, Е.Е. Нипот, Н.А. Ершова,

О.А. Шапкина, Н.М. Шпакова

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков

E-mail: nipotel71@gmail.com

ТЕМПЕРАТУРА, ОСМОЛЯЛЬНОСТЬ И ГЛЮКОЗА ОПРЕДЕЛЯЮТ УСТОЙЧИВОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ К ПОСТГИПЕРТОНИЧЕСКОМУ ШОКУ

Исследовано влияние глюкозы на чувствительность эритроцитов человека и кролика к действию постгипертонического шока. Установлено, что уровень постгипертонического гемолиза эритроцитов человека и кролика зависит от среды дегидратации и увеличивается с ростом концентрации соли в ней. Анализ чувствительности этих клеток к действию постгипертонического шока показал, что эритроциты кролика являются более устойчивыми: при 37 °С уровень повреждения эритроцитов кролика по крайней мере вдвое ниже, чем клеток человека; при 0 °С указанный эффект менее выражен.

Уровень постгипертонического гемолиза эритроцитов, предварительно обработанных глюкозой, определяется эндогенными (видовая принадлежность эритроцитов) и экзогенными факторами (концентрация модификатора и условия проведения постгипертонического шока). В случае эритроцитов человека глюкоза способна снижать уровень постгипертонического гемолиза, который превышает 50 %. Если в условиях постгипертонического шока глюкоза в высокой концентрации (5 %) эффективна при 37 и 0 °С, то в низкой (0,6 %) — только при 0 °С. В случае эритроцитов кролика глюкоза способна снижать уровень постгипертонического гемолиза только при использовании в высокой концентрации (5 %) в условиях постгипертонического шока при 37 °С.

Предполагается, что глюкоза образует водородные связи с цитоплазматическими белками, что препятствует связыванию с ними ионов натрия. Это предотвращает чрезмерное поступление ионов в клетку на этапе дегидратации и, соответственно, развитие повреждения эритроцитов при регидратации. Ожидается, что соблюдение околонулевых температур при размораживании эритроцитов человека и удалении криопротекторов позволит использовать меньшие концентрации глюкозы для достижения защитного эффекта и предотвращения ее токсического действия на клетки.

Ключевые слова: эритроцит, постгипертонический шок, дегидратация, регидратация, глюкоза, температура.

*K.A. Semionova, O.E. Nipot, N.A. Yershova,
O.O. Shapkina, N.M. Shpakova*

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine, Kharkiv

E-mail: nipotel71@gmail.com

TEMPERATURE, OSMOLALITY, AND GLUCOSE DETERMINE THE ERYTHROCYTE RESISTANCE TO POST-HYPERTONIC STRESS

The effect of glucose on the sensitivity of human and rabbit erythrocytes to post-hypertonic shock has been investigated. The level of post-hypertonic hemolysis of human and rabbit erythrocytes was found to depend on the dehydration medium and to increase with a rise in the salt concentration in it. An analysis of the sensitivity of these cells to the effects of post-hypertonic shock showed that rabbit erythrocytes were more resistant, i.e. at 37 °C, the injury rate of rabbit erythrocytes was at least a half lower of that for human cells; at 0 °C, the effect was less pronounced.

The level of post-hypertonic hemolysis of the erythrocytes pretreated with glucose was determined by endogenous (species belonging to erythrocytes) and exogenous factors (modifier concentration and post-hypertonic shock conditions). In case of human erythrocytes, glucose was capable of reducing the post-hypertonic hemolysis, which exceeded 50 %. If, under conditions of post-hypertonic shock, glucose in a high concentration (5 %) was effective at 37 and 0 °C, then, in low (0.6 %) one, it was effective only at 0 °C. In rabbit erythrocytes, glucose was capable of reducing a post-hypertonic hemolysis only when used at a high concentration (5 %) in post-hypertonic shock at 37 °C.

Glucose is thought to form hydrogen bonds with cytoplasmic proteins, which impedes the binding of sodium ions to them. This prevents the excess flow of ions into a cell during the dehydration step and, accordingly, the development of erythrocyte injury during rehydration. It is envisaged that the adherence to near-zero temperatures when thawing human erythrocytes and removing cryoprotectants will allow the use of lower concentrations of glucose to achieve a protective effect and prevent its toxic effect on cells.

Keywords: erythrocyte, post-hypertonic shock, dehydration, rehydration, glucose, temperature.