

Чувствительность эритроцитов человека к постгипертоническому шоку в присутствии глицерина

Е.А. Чабаненко, Н.М. Шпакова, Н.В. Орлова

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Sensitivity of Human Erythrocytes to Posthypertonic Shock in Glycerol Presence

O.O. Chabanenko, N.M. Shpakova, N.V. Orlova

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Модель постгипертонического шока (ПГШ) используют для изучения действия факторов криоповреждения, которые реализуются на этапе отогрева эритроцитов. Данная модель предусматривает перенесение клеток из среды, содержащей высокие концентрации соли, в физиологический раствор. При размораживании изменяющиеся концентрации соли и глицерина влияют на клетки одновременно, поэтому представляло интерес исследовать данный процесс с привлечением модельного подхода.

Цель работы – изучить влияние глицерина на чувствительность эритроцитов человека к действию постгипертонического шока в присутствии криопротектора на этапах предобработки и дегидратации при варьировании температуры.

Постгипертонический шок осуществляли перенесением эритроцитов из среды дегидратации (1,5 моль/л NaCl) в среду регидратации (0,15 моль/л NaCl) при варьировании температуры от 0 до 37°C (с шагом 5°C). Глицерин (5, 10 и 15%) добавляли на этапах предобработки (37°C, 20 мин) и дегидратации. Клетки, предварительно обработанные глицерином и затем подвергнутые действию ПГШ, рассматривали в качестве контроля. Уровень гемолиза эритроцитов определяли методом спектрофотометрии при длине волны 543 нм.

После варьирования продолжительности инкубирования контрольных клеток на этапе дегидратации были выявлены выраженные изменения уровня постгипертонического лизиса (ПГЛ) во временном диапазоне 5–20 мин. Зависимости ПГЛ эритроцитов от времени в среде регидратации не установлено. Добавление глицерина в среду дегидратации выявило аналогичные временные зависимости, однако уровень ПГЛ увеличивался примерно в 1,7 раза. При 37°C уровень ПГЛ контрольных клеток повышался только при концентрации глицерина 15%. В том случае, когда глицерин присутствовал в среде дегидратации, уровень ПГЛ эритроцитов возрастал примерно в 1,5 раза при использовании 10 и 15% глицерин. При 0°C глицерин во всех концентрациях повышал уровень ПГЛ как контрольных клеток, так и эритроцитов, перенесенных в изотонию из среды дегидратации, содержащей глицерин. Исследование влияния температуры на чувствительность контрольных клеток к ПГШ показало, что при низких температурах (0 и 5°C) ПГЛ клеток соответствует 90%, а при повышении температуры (от 5 до 30°C) уровень повреждения эритроцитов равномерно снижается до 25%. В случае присутствия глицерина в среде дегидратации уровень ПГЛ эритроцитов снижается в аналогичном температурном диапазоне (от 5 до 30°C).

Таким образом, уровень повреждения эритроцитов зависит от концентрации глицерина, присутствия его на разных этапах ПГШ и температуры.

Posthypertonic shock (PHS) model is used to study the effect of cryodamage factors, arising during the thawing of erythrocytes, and is implemented by cells transfer from a medium containing high concentrations of salt to physiological solution. During thawing, the effect of varying concentrations of salt and glycerol on cells occurs simultaneously, so it was of interest to investigate this process using a model approach.

The research aim was to study the effect of glycerol on sensitivity of human erythrocytes to the action of posthypertonic shock in the cryoprotectant presence at the stages of pre-treatment and dehydration accompanied with temperature varying.

Posthypertonic shock was initiated by transferring the erythrocytes from dehydration medium (1.5 mol/L NaCl) into rehydration one (0.15 mol/L NaCl), thereat the temperature varied from 0 to 37°C (with a 5°C step). Glycerol (5, 10 and 15%) was added at the pre-treatment (37°C, 20 min) and dehydration stages. The cells pretreated with glycerol and then subjected to PHS were considered as a control. The hemolysis level of erythrocytes was measured spectrophotometrically at a 543 nm wavelength.

Varying the duration of incubation of the control cells during the dehydration stage showed a pronounced dependence of posthypertonic lysis (PHL) level during 5–20 min. No dependence of erythrocyte PHL vs. time in the rehydration medium was revealed. When glycerol was added to the dehydration medium, similar temporal dependences were observed, but the PHL level increased nearly in 1.7 times. At 37°C, an increased PHL level of control cells was found only when glycerol was used at a 15% concentration. In the case of glycerol presence in the dehydration medium, the PHL level of erythrocytes increased nearly in 1.5 times when using 10 and 15% glycerol. At 0°C, the use of glycerol at all the concentrations led to the development of a high PHL level for both control cells and erythrocytes transferred to isotonic medium from the dehydration one containing glycerol. Studying the effect of temperature on sensitivity of the control cells to the PHS demonstrated that at low temperatures (0 and 5°C), the PHL of the cells was at 90% level, and with an increase in temperature from 5 up to 30°C, the uniform decline in the level of erythrocytes damage down to 25% was observed. If the glycerol was present in the dehydration medium a declined PHL level was observed within a similar temperature range (from 5 to 30°C).

Thus, the level of erythrocyte damage depends on the glycerol concentration, its presence at different stages of PHS and also the temperature.

