

Регуляция чувствительности эритроцитов к постгипертоническому лизису

С.В. МЕЛИХОВА¹, Н.А. ДАНИЛЕНКО², Е.Е. НИПОТ¹, В.А. БОНДАРЕНКО¹.

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

Постгипертонический лизис (ПГЛ) эритроцитов, как и гипертонический криогемолиз, представляет собой явление разрушения клеток, предварительным условием которого является их дегидратация, сопровождающаяся изменением клеточного объема и формы. Такие изменения приводят к нарушению структуры цитоскелет-мембранного комплекса, что рассматривается как фактор, резко повышающий чувствительность клеток к последующим изменениям осмотических и температурных параметров среды. В условиях дегидратации структурное состояние мембраны и цитоскелета зависит, с одной стороны, от характера перераспределения ионов и воды в гипертонической среде, и от структурных перестроек компонентов мембраны и цитоскелета, с другой. Использование на этом этапе веществ, способных оказывать влияние на перераспределение ионов между клеткой и внеклеточной средой может в свою очередь влиять на величину объемных изменений эритроцитов, и, как следствие на их чувствительность к ПГЛ. Вместе с этим установлено [1, 3], что присутствие двухвалентных катионов в среде регидратации способно оказывать модулирующий эффект на сохранность клеток в условиях ПГЛ. Но влияние трехвалентных катионов на чувствительность эритроцитов к ПГЛ изучено недостаточно.

В работе исследовалось влияние продолжительности инкубации (0-60 мин) эритроцитов человека в среде дегидратации (0,86 М сахарозы и 0,86 М сахарозы+0,15 М NaCl) на уровень ПГЛ эритроцитов при переносе в среду регидратации (0,15 М NaCl, 10 мин). Переносы осуществляли в двух температурных режимах: 37-37°C и 37-0°C. Для изучения влияния выхода ионов K⁺ из клеток на их чувствительность к ПГЛ в среду дегидратации добавляли 1 мМ валиномицина. Для того, чтобы оценить вклад белка полосы 3 в контроль чувствительности эритроцитов к ПГЛ клетки предварительно обрабатывали ингибитором анионного транспорта (DIDS 50мкМ) при 37°C в течение 30 мин. В следующей серии экспериментов в среду регидратации добавляли различные концентрации AlCl₃ (300-700 мкМ).

Адрес для корреспонденции: Мелихова С.В., 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

Установлено, что максимальный уровень сохранности (~100%) эритроцитов наблюдается при их переносе в изотоническую среду в режиме 37-37°C. В режиме 37-0°C чувствительность эритроцитов к ПГЛ повышается по мере увеличения продолжительности гипертонической инкубации. Присутствие валиномицина в среде дегидратации приводит к росту чувствительности клеток к изменению осмотических и температурных параметров среды. Обработка клеток DIDS практически полностью устраняет чувствительность клеток к ПГЛ. Присутствие AlCl₃ в среде регидратации при 0°C не оказывает влияния на сохранность эритроцитов, в то время как при температуре регидратации 37°C влияние катионов Al³⁺ зависит от их концентрации и не зависит от продолжительности периода, когда происходила дегидратация клеток. В указанных условиях сохранность эритроцитов снижается с увеличением концентрации AlCl₃ от 300 до 500 мкМ.

Таким образом, чувствительность эритроцитов к ПГЛ определяется величиной объемных изменений клеток, которая дополнительно зависит от количества катионов K⁺, вышедших из клеток на этапе дегидратации. Соответственно выход K⁺ сенсibiliзирует эритроциты к изменению температурных и осмотических параметров среды. Обработка клеток ингибитором анионного транспорта DIDS блокирует не только перераспределение Cl⁻ между клеткой и внеклеточной средой, но и частично ингибирует выход K⁺ [4], тем самым предотвращая достижение клетками минимального объема. В свою очередь, добавление AlCl₃ на этапе регидратации оказывает дестабилизирующее влияние на состояние цитоскелет-мембранного комплекса в процессе восстановления исходного объема.

Следует также отметить, что в том случае, когда изменение осмолярности среды сопровождается снижением температуры, наблюдается сходство между характером изменения чувствительности эритроцитов к ПГЛ и гипертоническому криогемолизу. Известно [2], что чувствительность клеток к охлаждению в гипертонической неэлектролитной среде контролируется содержанием K⁺, и DIDS способен блокировать развитие лизиса [2]. Исходя из этого, можно сделать вывод, что в режиме 37-0°C ключевым фактором повышения

уровня ПГЛ является снижение температуры регидратации до 0°C.

Литература

1. *Пателарос С.В.* Исследование катион-зависимого лизиса регидратированных эритроцитов крови человека // Пробл. криобиологии.– 1994.– №4.– С. 31-37.
2. *Рамазанов В.В., Руденко С.В., Бондаренко В.А.* Связь ионных потоков хлора и калия при осмотическом стрессе с развитием холодового шока эритроцитов //Фундаментальные и прикладные проблемы криобиологии: Сб. науч. тр.– Харьков, 1993.– С. 106-111.
3. *Руденко С.В., Пателарос С.В.* Активирующее и ингибирующее влияние двухвалентных катионов на постгипертонический гемолиз эритроцитов // Биологические мембраны.– 1995.– Т. 12, №4.– С. 374-384.
4. *Guizouarn H., Gabillat N., Motais R., Borgese F.* Multiple transport functions of red blood cell anion exchanger, tAE1: its role in cell volume regulation // J. of Physiol.– 2001.– Vol. 535, N2.– P. 497-506.