

Влияние локальной холодовой травмы на осмотическую резистентность эритроцитов

Е.А. Чабаненко¹, Г.А. Ковалев¹, И.А. Ефимова²

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

²Областная клиническая травматологическая больница, г. Харьков

Effect of Local Cold Injury on Osmotic Resistance of Erythrocytes

O.O. Chabanenko¹, G.A. Kovalov¹, I.A. Iefimova²

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv

²Regional Clinical Traumatology Hospital, Kharkiv

Локальная холодовая травма (ЛХТ) оказывает влияние на организм на местном и системном уровнях. Одним из параметров, характеризующих системное влияние ЛХТ, является осмотическая резистентность эритроцитов (ОРЭ), которая широко используется для оценки их структурно-функционального состояния.

Цель работы – изучение осмотической хрупкости эритроцитов крыс после локальной холодовой травмы различной степени тяжести.

Животных разделили на контрольную и три экспериментальные группы. Моделирование ЛХТ проводили на латеральной поверхности бедра криоинструментом (диаметр аппликатора 8 мм, время экспозиции 30, 60 и 120 с). Забор крови осуществляли через 1, 24 и 48 ч после криовоздействия. Для оценки ОРЭ клетки перенесли в гипотонические среды (40–100 ммоль/л NaCl) на 5 мин при 37°C. Уровень гемолиза эритроцитов определяли спектрофотометрически (543 нм). Дополнительно определяли количество эритроцитов, содержание гемоглобина, гематокрит, средний объем клетки и среднее внутриклеточное содержание гемоглобина.

Эксперименты проводили в соответствии с Законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» (№ 3447 – IV от 21.02.2006 г.) с соблюдением требований Комитета по биоэтике Института, согласованных с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985).

Через час после ЛХТ у животных всех экспериментальных групп установлено статистически значимое снижение уровня гипотонического гемолиза эритроцитов ($p < 0,05$). Через 24 ч уровень гемолиза соответствовал контролю при концентрации 40–60 ммоль/л и был ниже при концентрации 70–100 ммоль/л. Через 48 ч значимых различий по сравнению с контролем выявлено. Следует отметить, что независимо от степени тяжести ЛХТ характер кривых гипотонического гемолиза был идентичен. Можно предположить, что повышение ОРЭ связано с изменением состава эритроцитарного пула периферической крови, о чем свидетельствуют увеличение количества эритроцитов, повышение уровня гемоглобина и гематокрита через час после 30-секундного криовоздействия. Кроме того, повышение ОРЭ может быть обусловлено изменением состояния клеточных мембран, которое описано при взаимодействии адреналина с эритроцитами *in vitro*.

Таким образом, независимо от степени тяжести через час после ЛХТ наблюдалось повышение ОРЭ с последующим снижением до контрольных значений через 48 ч. Это может быть связано с изменением состава эритроцитарного пула периферической крови, состоянием мембраны клеток или сочетанием этих факторов.

Local cold injury (LCI) affects the organism at both local and systemic levels. As one of the parameters characterizing the systemic affect of LCI, we can consider the osmotic resistance of erythrocytes (ORE), the study of which is widely used to assess the structural and functional state of erythrocytes.

The research aim was to study the osmotic fragility of rat erythrocytes after local cold injury of varying severities.

The animals were divided into the control group (intact rats) and three experimental groups. The LCI was simulated on lateral surface of femur using the cryoprobe (8 mm applicator diameter, 30, 60 and 120 s exposure time). The blood was sampled after 1, 24 and 48 hrs after cryoexposure. To assess the ORE, the cells were transferred into hypotonic media (40–100 mmol/L NaCl) for 5 min at 37°C. The level of erythrocyte hemolysis was determined spectrophotometrically at 543 nm wavelength. Additionally, the number of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, mean cell volume and mean cell hemoglobin were measured. The experiments were carried out in accordance with the Law of Ukraine «On the Protection of Animals Against Cruelty» (№ 3447-IV of February 21, 2006), in compliance with the requirements of the Bioethics Committee of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine, agreed to the statements of European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasburg, 1986).

In all the experimental groups a statistically significant decrease in the level of hypotonic hemolysis ($p < 0.05$) was established in 1 hr after LCI. In 24 hrs, the hemolysis level corresponded to the control at 40–60 mmol/L concentrations and it was lower at 70–100 mmol/L. After 48 hrs, no significant differences as compared to the control, were revealed. It should be noted that, despite the LCI severity, the character of curves of hypotonic hemolysis was identical. An increase in ORE may be assumed as associated with a change in composition of peripheral blood erythrocyte pool, as evidenced by an increase in erythrocyte number, hemoglobin and hematocrit levels in 1 hr after 30 s cryoexposure. In addition, an increase in ORE may be stipulated by a change in cell membrane state, which was described during epinephrine interaction with erythrocytes *in vitro*.

Thus, despite the LCI severity, an increase of ORE was observed after 1 h, followed by a decrease down to the control level in 48 hrs after cryoexposure. This fact may be associated with a change in composition of peripheral blood erythrocyte pool, erythrocyte membrane state or if combining these mechanisms.

