

Влияние глюкозы на устойчивость эритроцитов млекопитающих к действию стрессовых факторов

Е.А. Семионова¹, О.А. Шапкина²

¹Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Glucose Affects the Resistance of Mammalian Erythrocytes to the Effect of Stress Factors

E.A. Semionova¹, O.A. Shapkina²

¹V.N. Karazin Kharkov National University

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Глюкоза является одним из важных компонентов среды для гипотермического хранения и низкотемпературного консервирования эритроцитов. Глюкозный компонент призван обеспечить энергетическую стабильность клеток в результате образования АТФ. Представляло интерес изучить влияние глюкозы на чувствительность эритроцитов млекопитающих (человек, крыса, кролик) к гипертоническому, холодовому и механическому шоку (ГШ, ХШ, МШ соответственно). Гипертонический и холодовой шок использовали в качестве модели факторов криоповреждения клеток, а МШ – для оценки вязко-эластичных свойств мембран эритроцитов.

Обработку эритроцитов млекопитающих глюкозой (0,6; 5%) осуществляли при температуре 37°C в течение 2 ч. Затем клетки подвергали действию ГШ (4,0 моль/л NaCl, 0°C), ХШ (охлаждение от 37 до 0°C в среде, содержащей 1,2 моль/л NaCl) или МШ [Шпакова Н.М. и соавт., 2010]. Уровень гемолиза эритроцитов определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 543 нм, выход ионов калия из клеток – ионометрическим методом.

Показано, что среди эритроцитов исследуемых млекопитающих к обработке глюкозой наиболее чувствительны клетки человека, для которых характерно наличие повреждения в результате инкубации с глюкозой в концентрации 5%. Сочетанное действие глюкозы и ГШ проявляется в увеличении гемолиза эритроцитов человека в отличие от клеток крысы и кролика. Модификация эритроцитов глюкозой в концентрации 0,6% не влияет на уровень гипертонического гемолиза клеток исследуемых млекопитающих. Выявлено, что уровень гемолитического повреждения эритроцитов кролика при сочетанном действии глюкозы (5%) и ХШ не изменяется, в то время как клеток человека и крысы – повышается. Установлено, что контрольные и модифицированные глюкозой (5%) эритроциты кролика более устойчивы к МШ (при использовании показателей гемолиза и выхода калия из клеток) в отличие от эритроцитов человека и крысы.

Таким образом, обработка эритроцитов кролика глюкозой не оказывает влияния на их чувствительность к действию ГШ, ХШ и МШ, в то время как чувствительность эритроцитов человека и крысы к этим стрессовым факторам варьирует в разной степени. Выявленная высокая стойкость эритроцитов кролика, по-видимому, связана с низкой способностью этих клеток накапливать глюкозу [Albert S.G., 1984; Montel-Hagen A. и соавт., 2008]. Кроме того, эритроцитарная мембрана кролика лишена гликофорина А [Ligi F. и соавт., 1998], что снижает степень ее контакта с внутриклеточными молекулами гемоглобина [Rauenbuehler P.B. и соавт., 1982] и уменьшает вероятность образования трансмембранных дефектов в условиях действия стрессовых факторов.

Glucose is one of the important components of media for hypothermic storage and low temperature preservation of erythrocytes, providing an energetic stability of cells as a result of ATP formation. Of interest was to study the glucose effect on sensitivity of mammalian erythrocytes (human, rat, rabbit) to hypertonic, cold and mechanical shocks (HS, CS and MS, respectively). The HS and CS were used as the model of cryodamage factors of cells; and MS for assessing the viscous-elastic properties of erythrocyte membranes.

Mammalian erythrocytes were treated with glucose (0.6, 5%) at 37°C for 2 hrs. Then the cells were subjected to the effect of HS (4.0 mol/l NaCl, 0°C), CS (cooling from 37 to 0°C in the medium, containing 1.2 mol/l NaCl) or MS [Shpakova N.M. *et al.*, 2010]. The level of erythrocyte hemolysis and potassium ions release out of cells were determined spectrophotometrically at 543 nm and by ionometric method, respectively.

It was demonstrated that among erythrocytes of studied mammals the most sensitive to glucose treatment were human cells, where the injury was observed already after incubating with 5% glucose. Combined effect of glucose and HS was manifested in an increased hemolysis of human erythrocytes in contrast to rat and rabbit cells. Erythrocyte modification with 0.6% glucose did not affect the level of hypertonic hemolysis of cells of the studied mammals. The level of hemolytic damage of rabbit erythrocytes under a combined effect of glucose (5%) and CS was revealed to remain unchanged, meanwhile for human and rat cells it was increased. It was established that the control and glucose (5%) modified rabbit erythrocytes were more resistant to MS (in terms of the indices of hemolysis and potassium release out of cells) in contrast to human and rat erythrocytes.

Thus, the glucose treatment of rabbit erythrocytes caused no effect on their sensitivity to the effects of HS, CS and MS, meanwhile the human and rat erythrocytes sensitivity changed in different extent. Possibly, a high resistance of rabbit erythrocytes was associated to a low capability of these cells to accumulate glucose [Albert S.G., 1984; Montel-Hagen A. *et al.*, 2008]. In addition, the rabbit erythrocyte membrane is deprived of glycoporphin A [Ligi F. *et al.*, 1998], that decreases the extent of its contact with intracellular molecules of hemoglobin [Rauenbuehler P.B. *et al.*, 1982] and reduces the probability of transmembrane defect formation under stress factors.

