

Влияние pH, температуры на устойчивость эритроцитов к гипертоническому стрессу

Д.И. АЛЕКСАНДРОВА¹, В.А. БОНДАРЕНКО²

¹Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

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

Influence of pH, Temperature on Erythrocyte Resistance to Hypertonic Stress

D.I. ALEKSANDROVA¹, V.A. BONDARENKO²

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

²Karazin National University, Kharkov

Гипертонический стресс является одним из основных факторов криоповреждения. Изучение влияния на клетки таких факторов, как осмолярность среды, ионная сила, температура и pH, имеет важное значение для повышения эффективности существующих методов криоконсервирования.

Цель данной работы – исследование чувствительности эритроцитов к гипертоническому криогемолизу в зависимости от pH среды инкубации.

В работе использовали эритроциты донорской крови, которые отмывали раствором 0,15 М NaCl (pH 7,4). Растворы готовили на фосфатном буфере.

На первом этапе эритроциты инкубировали в течение 10 мин в средах, содержащих от 0,15 до 1,5 М NaCl с pH 5,5; 7,4; 9,0. На втором этапе эритроциты переносили на 10 мин в раствор 4 М NaCl с указанными значениями pH. При переносе клеток использовали принцип перекрестного изменения значения pH, т.е. значения pH изменяли на всех этапах инкубации клеток. Также варьировались температурные режимы 37-0, 0-0, 37-37°C.

В результате исследований получены следующие результаты.

При варьировании значений pH на первом этапе (на втором этапе значение pH постоянное) наблюдаются значительные изменения сохранности клеток в растворе 4М NaCl, на втором этапе (на первом этапе значение pH постоянное) – незначительные. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что исходный этап дегидратации клеток является наиболее важным при контроле степени устойчивости клеток к гипертоническому стрессу.

Во всех вариантах переноса отмечается более высокая устойчивость эритроцитов к гипертоническому шоку в растворе 4 М NaCl, инкубируемых на первом этапе в растворах NaCl с pH 5,5 и 7,4. Возможно, это связано с тем, что более кислое значение pH 5,5 вызывает увеличение объема клеток, а его щелочное значение приводит к уменьшению объема эритроцитов, что усиливает действие гипертонического стресса и сдвиг температуры. Перенос клеток, предварительно инкубированных в растворах со значением pH 9,0, вызывает более высокие значения гемолиза. Вероятно, при таком значении pH снижается поверхностное натяжение мембраны, в результате чего она находится в неустойчивом состоянии.

Hypertonic stress is one of the main factors of cryo-damage. Studying the effect of such factors as medium osmolarity, ion strength, temperature and pH on cells is of importance for augmenting the efficiency of current cryopreservation methods.

Our research was targeted to study the erythrocyte sensitivity to hypertonic cryohemolysis depending on incubation medium pH.

Donor blood erythrocytes, washed with 0.15M NaCl (pH 7.4) solution was used in the work. Solutions were prepared with phosphate buffer.

At the first stage erythrocytes were incubated for 10 min into the media, containing from 0.15 to 1.5M NaCl with pH 5.5; 7.4; 9.0. At the second stage erythrocytes were transferred for 10 min into 4M NaCl solution with the mentioned pH values. Principle of cross change in pH value was used during cell transfer, i.e. pH values were changed at all stages of cell incubation. Temperature regimens varied as well: 37-0, 0-0, 37-37°C.

As a result of research the following results were obtained:

When varying pH values at the first stage (pH is constant at the second one) the significant changes in cell integrity are observed in 4.0 M NaCl, at the second one (with constant pH value at the first stage) they are insignificant in 4.0 M NaCl. Basing on the results obtained we can conclude that the initial stage of cell dehydration is the most important when controlling the extent of cell resistance to hypertonic stress.

During all transfers a higher resistance of erythrocytes in 4.0 M NaCl, incubated at the first stage in NaCl solution with pH 5.5 and 7.4, is noted. It might be associated to the fact, that more acid pH value 5.5 causes an increase in cell volume, but its alkaline value results in a decrease in erythrocyte volume, that strengthens the effect of hypertonic stress and temperature shift. Transfer of the cells, pre-incubated in solutions with pH value 9.0 causes higher hemolysis values. Possibly, under such pH value there is a reduction of membrane surface tension, resulting in its unstable state.