

Изменение механической стабильности эритроцитов человека в присутствии криопротекторов: роль ионной силы среды и кальция

Н.Г. ЗЕМЛЯНСКИХ, Д.И. АЛЕКСАНДРОВА, Л.А. БАБИЙЧУК

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Change of Human Erythrocyte Mechanical Stability in Presence of Cryoprotectants: Role of Ionic Strength and Calcium

N.G. ZEMLYANSKIKH, D.I. ALEXANDROVA, L.A. BABIYCHUK

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

Выживаемость эритроцитов в процессе замораживания-отогрева в присутствии криопротекторов может быть связана как с изменением характера кристаллизации жидкой фазы, так и с возможностью модификации структурных свойств и функциональной активности компонентов клетки. Для эритроцитов структурный и функциональный ответ на воздействие криопротекторов связан, прежде всего, с реорганизацией плазматической мембраны. Механическая стабильность эритроцитов – одна из наиболее важных функциональных характеристик, которая определяется структурными свойствами липидного бислоя и состоянием белков мембрано-цитоскелетного комплекса.

Цель данного исследования – изучение влияния ряда химических соединений, обладающих криопротекторными свойствами, на устойчивость эритроцитов человека при механическом стрессе; оценка модифицирующей роли электролитов и ионов кальция, присутствующих во внеклеточной среде, на состояние клеток в данных условиях.

Механическую чувствительность оценивали по уровню гемолиза клеточных суспензий в средах, содержащих различные концентрации NaCl, глицерола, маннитола, сахарозы, ПЭГ-1500 и декстрана м.м. 40000.

Полученные результаты показали, что при механическом стрессе гипертонические концентрации NaCl и маннитола дестабилизировали клетки, а сахароза, декстран, глицерол и ПЭГ понижали уровень гемолиза относительно контроля. Максимальную эффективность в стабилизации эритроцитов проявляли глицерол и ПЭГ (5–15%). Уровень гемолиза во всех средах, не содержащих NaCl, существенно возрастал по отношению к гемолизу в аналогичных растворах с включением 150 мМ NaCl, что может быть вызвано изменением мембранного потенциала. Введение Ca²⁺ и ЭДТА в раствор ПЭГ повышало гемолиз практически в 2 раза по сравнению с исходным раствором. В глицерол-содержащей среде ЭДТА вызывал сходную реакцию, однако Ca²⁺ не оказывал значимого влияния. Эффект ЭДТА на эритроциты, очевидно, связан с его влиянием на мембраносвязанный Ca²⁺, что негативно отражается на структуре мембранных компонентов. Влияние Ca²⁺ в ПЭГ- и глицерол-содержащих растворах на механическую стабильность эритроцитов может быть обусловлено различным состоянием систем, регулирующих уровень Ca²⁺ в клетках в присутствии данных веществ.

Таким образом, криопротекторные соединения могут повышать механическую устойчивость эритроцитов, что указывает на их способность стабилизировать эритроциты к различным типам стрессовых воздействий на основе неких общих принципов или на возможность того, что механическая стабилизация является составным элементом криозащиты клеток.

Survival of erythrocytes during freeze-thawing in the presence of cryoprotectants can be associated with the change in the liquid phase crystallization character and with the possibility of modifying the structural properties and functional activity of cell components. For erythrocytes a structural and functional response to the cryoprotectant is primarily associated with the reorganization of plasma membrane. Mechanical stability of red blood cells is one of the most important functional characteristics, which is determined by structural properties of lipid bilayer and the state of the proteins of membrane-cytoskeletal complex.

The research aim was to study the effect of a number of chemical compounds with cryoprotective properties on the resistance of human erythrocytes to a mechanical stress, evaluation of a modifying role of electrolytes and calcium ions present in extracellular environment, on the state of cells under these conditions.

Mechanical sensitivity was assessed by the level of cell suspension hemolysis in media containing different concentrations of NaCl, glycerol, mannitol, sucrose, PEG-1500 and dextran with 40,000 m.m.

The obtained results showed that during mechanical stress hypertonic concentrations of NaCl and mannitol destabilized the cells, and sucrose, dextran, glycerol and PEG reduced the level of hemolysis compared with the control. Glycerol and PEG (5–15%) showed a maximum efficiency in erythrocyte stabilization. Level of hemolysis in all the media not containing NaCl significantly increased if compared to hemolysis in similar solutions with the inclusion of 150 mM NaCl, which may be caused by the change of membrane potential. Introduction of Ca²⁺ and EDTA in PEG solution increased the hemolysis twice if compared to the initial solution. In the glycerol-containing medium EDTA induced similar reactions, but Ca²⁺ did not affect significantly. Effect of EDTA on erythrocytes is obviously related to its effect on membrane-bound Ca²⁺, which negatively affects the structure of membrane components. Effect of Ca²⁺ in PEG and glycerol-containing solutions on the mechanical stability of red blood cells may be stipulated by different states of the systems regulating the level of Ca²⁺ in cells in the presence of these substances.

Thus, cryoprotective compounds can increase the mechanical stability of erythrocytes indicating their ability to stabilize the erythrocytes to different types of stress on the basis of some general principles or to the possibility that mechanical stabilization is an element of cell cryoprotection.