

Транспорт криопротекторов ряда диолов через мембраны эритроцитов животных

Г.В. КОВАЛЕНКО, И.Ф. КОВАЛЕНКО, Т.П. ЛИННИК

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Transport of Diol Series Cryoprotectants Through Animal Erythrocyte Membranes

G.V. KOVALENKO, I.F. KOVALENKO, T.P. LINNIK

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

Для научно обоснованного подхода к разработке методов криоконсервирования биологических объектов необходимо знать ряд биофизических параметров клеток: объем, площадь поверхности, количество осмотически активной воды, проницаемость мембран клеток для криопротекторов. В работе изучена проницаемость мембран нативных и проинкубированных с ртутным сульфгидрильным реагентом (pCMBs) эритроцитов крысы и кролика для ряда диолов (7 соединений) в зависимости от их структурной изомерии. Выбор криопротекторов обусловлен широким применением диолов в практике криобиологии для криоконсервирования биологических объектов разного уровня организации.

Методом малоуглового рассеивания света с длиной волны 1000 нм определены коэффициенты проницаемости мембран нативных эритроцитов крысы и кролика для диолов при температурах 25 и 37°C, а также эритроцитов, модифицированных инкубацией с ртутным сульфгидрильным реагентом (pCMBs) – блокаторм белковых водных каналов (белок полосы 3) при 25°C. Рассчитаны энергии активации переноса молекул диолов через мембраны нативных эритроцитов крысы и кролика в диапазоне температур 25–37°C и через мембраны проинкубированных эритроцитов с pCMBs при 25°C.

Установлено, что проницаемость изученных веществ через мембрану эритроцитов крысы выше, чем кролика, что обусловлено более высокой текучестью мембран эритроцитов крысы.

Полученные данные свидетельствуют, что механизм проницаемости диолов через мембраны эритроцитов крысы и кролика имеет сложный характер. Пассивная диффузия криопротекторов в эритроциты крысы и кролика осуществляется двумя альтернативными путями – через гидрофильные водные каналы (данные ингибирования проницаемости с блокаторм pCMBs) и непосредственно через липидный бислой (значимая зависимость коэффициентов проницаемости веществ от их “гидрофобности” и высокие значения энергии активации после инкубирования эритроцитов с pCMBs). 1,2-бутандиол – наиболее гидрофобное соединение в ряду диолов проникает в эритроциты преимущественно через липидный бислой и только незначительное количество (не более 16–18%) способно к диффузии через гидрофильные белковые поры. Не выявлена достоверная корреляция проницаемости мембран эритроцитов крысы и кролика для изученных диолов от геометрических параметров их молекул.

For scientifically substantiated approach in designing the methods for biological object cryopreservation it is necessary to know some biophysical cell parameters: volume, surface area, amount of osmotically active water, cell membrane permeability for cryoprotectants. Membrane permeability of rat's and rabbit's active erythrocytes and those, incubated with mercuric sulfhydryl reagent (pCMBs), for diol series (7 compounds) depending on their structural isomerism, has been studied in the research. Cryoprotectant choice is stipulated by a wide diol application in cryobiological practice for cryopreservation of biological objects with different organisation level.

The membrane permeability coefficients of rat and rabbit's native erythrocytes for diols at 25 and 37°C, as well as the erythrocytes, modified with incubation of mercuric sulfhydryl reagent (pCMBs): blocker of protein aqueous channels (band 3 protein) at 25°C, have been determined using the method of small-angle light scattering with 1,000 nm wavelength. Activation energies of diol molecule transfer through the rat and rabbit's native erythrocyte membranes within 25–37°C range and through those of erythrocytes, incubated with pCMBs at 25°C, have been calculated.

Permeability of studied substances through rat's erythrocyte membrane is higher than in rabbit's ones, that is stipulated by a higher fluidity of rat's erythrocyte membranes.

The data obtained testify to the fact that the mechanism of diol permeability through rat's and rabbit's erythrocyte membranes is of complex nature. Passive cryoprotectant diffusion into rat's and rabbit's erythrocytes is realised by two alternative ways: through hydrophilic aqueous channels (data of permeability inhibition with pCMBs blockers) and directly through lipid bilayer (significant dependency of substance permeability coefficients on their “hydrophobicity” and high values of activation energy after erythrocyte incubation with pCMBs). The most hydrophobic compound in diol series: 1,2-butanediol penetrates into erythrocytes mostly via lipid bilayer and only small number (not higher than 16–18%) is capable to diffuse through hydrophilic protein pores. No statistically significant correlation of rat's and rabbit's erythrocyte membrane permeability for studied diols on geometric parameters of their molecules has been revealed.