

УДК 57.043:577.352.4:611.018.51:541.183

ГІПЕРТОНІЧНИЙ СТРЕС ЕРИТРОЦИТІВ ССАВЦІВ ПІД ВПЛИВОМ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТА НАТРІЮ ТА ТЕМПЕРАТУРИ 49°C

Н. А. Єршова¹, С. С. Єршов²

^{1,2} Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,
вул. Переяславська, 23, Харків, 61015, Україна

Гіпертонічний стрес (ГС) еритроцитів – це явище пошкодження клітин при перенесенні їх у гіпертонічне середовище при постійних позитивних значеннях температури. ГС використовують як модель, за допомогою якої вивчають вплив одного з основних факторів пошкодження клітин при заморожуванні, а саме висококонцентрованих сольових розчинів, що утворюються в результаті виморожування води.

Відомо, що стан цитоскелет-мембранного комплексу обумовлює характер відповіді клітини на дію стресових факторів [1]. Тому вивчення особливостей модифікації цитоскелета має важливе значення для розуміння механізмів стійкості клітин в умовах гіпертонічного стресу. Відомо, що інкубація еритроцитів ссавців при 49°C призводить до денатурації спектрину [6, 7].

У зв'язку з цим становило інтерес дослідити вплив модифікації цитоскелета клітин під дією температури 49°C на осмотичну чутливість еритроцитів людини та бика, що у значній мірі відрізняються складом цитоскелет-мембранного комплексу [3], а також вивчити ефективність додецилсульфата натрію (C12) в умовах ГС.

Для дослідження використовували еритроцити, отримані з крові людини (*Homo sapiens*) і бика (*Bos taurus*), заготовленої на консерванті «Глюгіцир». Виділення еритроцитів проводили за стандартною методикою [2].

Гіпертонічний стрес еритроцитів здійснювали шляхом перенесення аліквоти суспензії еритроцитів в 1мл розчину, що містить 4,0 моль/л NaCl, на 5 хв при температурі 37 або 0°C. C12 додавали в гіпертонічне середовище перед внесенням до нього клітин [2]. Рівень вийшовшого в супернатант гемоглобіну визначали спектрофотометричним методом при довжині хвилі 543 нм. За 100% приймали поглинання проби, в яку додавали тритон X-100 (0,1%).

Модифікацію цитоскелета еритроцитів ссавців (гематокрит 25%) здійснювали інкубуванням клітин при температурі 49°C протягом 10 хв.

Рівень гемолізу еритроцитів людини і бика в 4,0 моль/л NaCl при 37°C становить 90%, а при зниженні температури до 0°C для клітин людини - 55%, а бика – не більше 10%. Останнє, ймовірно,

обумовлено особливостями фосфоліпідного складу мембран еритроцитів бика, а саме, відсутністю фосфатидилхоліна разом з високим рівнем сфінгомієліна [4].

Модифікація цитоскелета еритроцитів людини при 49°C значно знижує чутливість клітин до гіпертонічного впливу при 37°C, у той час як чутливість еритроцитів бика не змінюється. В умовах ГС при 0°C модифікація цитоскелета клітин не впливає на чутливість еритроцитів обох досліджуваних видів ссавців.

C12 проявляє високу антигемолітичну активність для клітин людини (більше 70%) і менш ефективний для клітин бика (33%) в умовах ГС при температурі 37°C. При 0°C антигемолітична активність C12 знижується для еритроцитів людини (до рівня 30%) і не реєструється для клітин бика.

Попереднє інкубування еритроцитів при 49°C призводить до зниження антигемолітичної активності C12 в умовах ГС еритроцитів людини в 2 рази, а еритроцитів бика – в 4.

Антигемолітичний ефект амфіфільної сполуки C12, ймовірно, обумовлений здатністю її молекул при вбудовуванні в еритроцитарну мембрану разупорядковувати її структуру і перешкоджати розвитку трансмембранних дефектів до розміру гемолітичних пор. Відомо, що інкубування еритроцитів ссавців при 49°C призводить до денатурації цитоскелетних білків, зокрема спектрина, збільшує в'язкість мембран еритроцитів і зменшує їх плинність [5, 7]. Таким чином, дана модифікація впливає на клітинну мембрану протилежно від дії амфіфілів, підвищуючи жорсткість бішару, що і призводить до зниження здатності амфіфілів разупорядковувати мембрану і виявляється в зменшенні їх антигемолітичної активності.

Література

1. Белоус А. М. Роль белков цитоскелета в холодовой стабильности клеток / А. М. Белоус // Криобиология. – 1990. – №3. – С. 3–12.

2. Шпакова Н. М. Антигемолитический эффект хлорпромазина при гипертоническом и холодовом шоке эритроцитов / Н. М. Шпакова, Е. Р. Панталер, В. А. Бондаренко // Биохимия. – 1995. – Т. 60, № 10. – С. 1624–1631.

3. A unique phospholipid organization in bovine erythrocyte membranes / J. Florin-Christenses, C. E. Suarez, M. Florin-Christenses [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci USA. – 2001. – Vol. 98, № 14. – P. 7736–7741.

4. Evidence for a relationship between bovine erythrocyte lipid membrane peculiarities and immune pressure from ruminal ciliates / G. Gimenez, M. Florin-Christensen, M. L. Belaunzaran [et al.] // Vet. Immunol. Immunopathol. – 2007. – Vol. 119. – P. 171–179.

5. Kucera W. Influence of heat-induced changes in the mechanical properties of the membrane on the filterability of human erythrocytes /

«БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ – 2014»: Збірник наукових праць V Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених і студентів. – Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І.Франка, 2014. – С.275-277.

W. Kucera, W. Meier, D. Lerche // *Biomed Biochim Acta*. – 1986. – Vol. 45, № 3. – P. 353–358.

6. Pathway shifts and thermal softening in temperature-coupled forced unfolding of spectrin domains / R. Law, G. Liao, S. Harper [et al.] // *Biophys. J.* – 2003. – Vol. 85, № 5. – P. 3286–3293.

7. Mosior M. Effect of the level of ATP and of the state of spectrin on osmotic properties of bovine erythrocytes / M. Mosior, M. Bobrowska, J. Gomulkiewicz // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1990. – Vol. 1022. – P. 355–360.