

УДК 612.111:57.043:577.352.4

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ПОШКОДЖЕННЯ ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ ТА КРОЛИКА ПРИ ЇХ ПЕРЕМІЩЕННІ З РОЗЧИНУ КРІОПРОТЕКТОРУ У СОЛЬОВЕ СЕРЕДОВИЩЕ.

О.Є. Ніном¹, Н.А. Єршова¹, С. М. Федосова², О.О. Чабаненко¹, С.С. Єршов¹, Н.М. Шпакова¹

¹Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, 61016, Україна

²Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, м. Харків, Україна

На даний час механізми захисту еритроцитів людини за умов заморожування-відтавання є достатньо вивченими, що дозволило розробити протоколи кріоконсервування цих клітин. Застосування таких протоколів для еритроцитів тварин потребує змін, які будуть враховувати особливості будови їх мембран, в'язкоеластичних властивостей, проникності для кріопротекторних речовин, тощо. У якості ефективного кріопротектору клітин часто використовується диметилсульфоксид (ДМСО). Кріопротекторний механізм ДМСО зазвичай пояснюється здатністю пригнічувати утворення льоду та зменшенням осмотичного стресу під час заморожування [1]. Показано його успішне використання у кріопротекторних сумішах для еритроцитів ссавців [2].

Мета роботи – оцінити рівень пошкодження еритроцитів людини та кролика при їх переміщенні з розчину кріопротектору ДМСО у сольове середовище.

Для дослідження використовували еритроцити, отримані з крові людини та кролика за стандартною методикою. Заготівлю крові кролика і всі маніпуляції проводили відповідно до вітчизняних та міжнародних біоетичних норм. Після видалення плазми еритромасу двічі відмивали фізіологічним розчином шляхом центрифугування. До суспензії еритроцитів додавали розчин ДМСО. Кінцева концентрація кріопротектора складала 10 %. Суміш інкубували за температури 22°C впродовж 20 хв. Після цього клітини переносили у розчини NaCl різної концентрації. Вміст гемоглобіну, що вийшов у супернатант, визначали спектрофотометрично. Статистичну обробку отриманих числових даних проводили за допомогою програми "Statistica" (версія 6.0).

Отримані дані показали, що пошкодження еритроцитів спостерігається тільки при переміщенні еритроцитів з розчину кріопротектора у сольовий розчин 0,15 моль/л та 0,4 моль/л NaCl. Перенесення у розчини з більшою концентрацією NaCl не призводить до гемолізу клітин. Ці особливості були характерні для обох досліджуваних видів ссавців. Так, рівень пошкодження еритроцитів людини складав: 0,15 моль/л NaCl – 88 ± 3 %; 0,4 моль/л NaCl – 22 ± 2 %; 0,5 моль/л NaCl – 3 ± 1 %; 0,6 моль/л NaCl – 4 ± 1 %; 0,7 моль/л NaCl – 2 ± 1 %. Для еритроцитів кролика: 0,15 моль/л NaCl – 92 ± 3 %; 0,4 моль/л NaCl – 39 ± 7 %; 0,5 моль/л NaCl – 3 ± 2 %; 0,6 моль/л NaCl – 2 ± 1 %; 0,7 моль/л NaCl – 3 ± 2 %. Звертає на себе увагу наявність видоспецифічності рівня пошкодження еритроцитів, яка найбільш проявлена при переносі клітин з розчину ДМСО у 0,4 моль/л NaCl. У цьому випадку еритроцити кролика є більш чутливими, ніж людини, співвідношення рівнів гемолізу складає 1,8 разів.

Відомо, що ДМСО має диференційовану дію на біологічні мембрани залежно від їх складу та структури. Він здатен змінювати механічні властивості мембрани еритроцитів і впливає на її проникність навіть у відносно низьких концентраціях [3]. Оскільки еритроцити ссавців відрізняються за фосфоліпідним та білковим складом, у дії кріопротектору теж, ймовірно, будуть спостерігатися відмінності. Крім того, виходячи з отриманих результатів, можна припустити, що проникність для кріопротектору еритроцитів кролика може бути вищою і, отже, можливо, потрібен менший час інкубації з кріопротектором для досягнення тієї ж концентрації у внутрішньоклітинному середовищі у порівнянні з еритроцитами людини.

Таким чином, результати роботи продемонстрували різну реакцію еритроцитів людини та кролика на інкубацію з кріопротекторною речовиною ДМСО. Цей факт підкреслює необхідність створення окремих протоколів кріоконсервування для еритроцитів тварин з метою підвищення ефективності їх зберігання.

Література.

1. Ulizko P., Bobrova O., Nardid O., Vodopyanova L., Repina S. New cryoprotective media for cryopreservation of mammal erythrocytes. *Trakia Journal of Sciences*. 2019. Vol. 17, No 4. P. 303-307. <https://doi.org/10.15547/tjs.2019.04.001>.
2. Mandumpal J. B., Kreck C. A., Mancera R. L. A molecular mechanism of solvent cryoprotection in aqueous DMSO solutions. *Physical chemistry chemical physics*. 2011. Vol. 13, No 9. P. 3839–3842. <https://doi.org/10.1039/C0CP02326D>
3. Gironi B., Kahveci Z., McGill B., Lechner B.-D., Pagliara S., Metz J., Morresi A., Palombo F., Sassi P., Petrov P. G. Effect of DMSO on the mechanical and structural properties of model and biological membranes. *Biophysical Journal*. 2020. No 119. P. 274–286. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.05.037>.