

МЕХАНІЧНЕ ПОШКОДЖЕННЯ ЕРИТРОЦИТІВ ССАВЦІВ*Н. М. Шнакова*, к. б. н., с. н. с., *О. Є. Ніном*, к. б. н., с. н. с.,*Н. В. Орлова*, к. б. н., с. н. с.

nipotel71@gmail.com

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України

Вивчення стресового впливу на клітини є доволі актуальною проблемою сучасної біології. Еритроцити людини є чи не найпоширенішим об'єктом дослідження у цьому напрямку. Еритроцити тварин менш досліджені. Не дивлячись на те, що функціональне навантаження еритроцитів як людини так і тварин подібне, вони значно відрізняються за складом мембран, транспортними функціями, тощо. Виходячи з цього можна припустити, що реакція еритроцитів ссавців на стрес буде різною. Механічний стрес тісно пов'язаний зі здатністю клітин до деформації. Незначний ступінь механічного стресу спостерігається навіть в фізіологічних умовах при проходженні клітин по вузьким капілярам. При захворюваннях, пов'язаних зі зміною реологічних властивостей крові (низка інфекційних та паразитарних захворювань), здатність клітин до деформації значно знижується, наслідком чого є зростання механічного впливу на еритроцити при проникненні у капіляри.

Метою роботи було дослідження чутливості еритроцитів людини, бика, коня, щура і кролика до механічного стресу шляхом визначення рівня гемолізу та вивільнення іонів калію під час стресового впливу.

У роботі еритроцити ссавців піддавали механічному впливу шляхом перемішування клітинної суспензії в середовищі, що містило 0,15 М NaCl. Перемішування здійснювали в ємності з пластиковими кульками при кімнатній температурі (21 ± 2 °C) і за допомогою магнітної мішалки протягом 60. Через певні проміжки часу з клітинної суспензії відбирали аліквоту для визначення вмісту гемоглобіну та іонів калію. Вміст гемоглобіну визначали спектрофотометрично. Вміст іонів калію визначали за допомогою іонселективного калієвого електроду.

Для еритроцитів усіх досліджених ссавців спостерігалось зростання виходу гемоглобіну та вивільнення іонів калію при збільшенні часу механічного впливу на клітини. Нетривале інкубування не приводило до втрати іонів калію еритроцитами людини, кролика та коня. Для еритроцитів щура рівень втрати іонів калію становив 22 ± 3 %, бика — 10 ± 2 %. При цьому гемолітичного пошкодження клітин не спостерігалось. При 30-хвилинному інкубуванні для еритроцитів людини, кролика та коня рівень виходу калію відповідав рівню гемолізу клітин і складав 13 ± 2 %, 12 ± 2 % і 17 ± 3 % відповідно. Тобто втрата клітинами іонів калію відбувалася тільки за рахунок руйнування клітин. Для еритроцитів щура в даних умовах рівень виходу катіонів калію складав 33 ± 3 % при рівні гемолізу 20 ± 2 %. Для еритроцитів бика — 40 ± 5 % та 10 ± 2 % відповідно. Після 60 хвилин інкубації в умовах механічного стресу тільки для еритроцитів кролика рівень вивільнення іонів калію співпадав з рівнем гемолізу клітин та становив 20 ± 3 %. Еритроцити інших ссавців характеризувалися різними рівнями виходу калію та гемоглобіну. Для еритроцитів людини рівень вивільнення іонів калію складав 38 ± 4 % при рівні гемолітичного пошкодження 27 ± 4 %. Для еритроцитів коня ці параметри склали 30 ± 3 % та 20 ± 2 %, щура 42 ± 4 % та 30 ± 3 %, бика 65 ± 6 % та 20 ± 2 % відповідно.

Аналізуючи представлені вище дані, можна сказати, що еритроцити досліджених ссавців значно відрізнялися за реакцією на механічний стрес. Для еритроцитів усіх ссавців, крім кролика, спостерігалася наявність двох субпопуляцій клітин. Еритроцити, що належать одній з субпопуляцій під дією механічного впливу пошкоджувалися повністю (спостерігався гемоліз клітин), еритроцити, що належали до іншої субпопуляції, пошкоджувалися частково (спостерігався тільки вихід іонів калію). У цілому до механічного впливу найбільш стійкими виявилися еритроцити кролика, рівень пошкодження яких за обома параметрами (рівень гемолізу та вивільнення іонів калію) був найменшим. Найбільш чутливими до механічного стресу за параметром гемолітичного пошкодження були еритроцити щура, за параметром вивільнення іонів калію — еритроцити бика.

Таким чином, рівень пошкодження еритроцитів ссавців при механічному стресі визначався видом досліджуваного ссавця та параметром, за яким оцінювалось це пошкодження. Наявність незначного пошкодження клітин за одним параметром (наприклад, цілісність клітин) не гарантувало відсутності «прихованих» пошкоджень, які виявлялися додатковими методами (наприклад, вивільнення іонів калію). Це ще раз підкреслює важливість всебічного дослідження клітин при дії стресових факторів.