

**ВПЛИВ ГЛІЦЕРИНУ НА ЗБЕРЕЖЕНІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ ССАВЦІВ
ЗА УМОВ ДІЇ ОСМОТИЧНОГО СТРЕСУ**

Н. М. Шпакова¹, д. б. н., *Н. В. Орлова¹*, к. б. н., *О. Є. Ніном¹*, к. б. н., *К. А. Семіонова²*, аспірант
starling.nataly@gmail.com

¹Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

²Харківський національний університет ім. Каразіна, м. Харків

Застосування кріопротекторів є необхідною умовою заморожування суспензій клітин з метою довготривалого зберігання. При цьому різні клітини вимагають індивідуального підбору вида кріопротектора, його концентрації, оптимальних умов використання. Щоб полегшити процес підбору кріозахисних середовищ використовуються модельні експерименти, в яких досліджують чутливість клітин до найбільш вагомих факторів кріопшкодження. Одним з таких факторів є гіпертонічний стрес, якому піддаються клітини внаслідок виморожування води в кріозахисних середовищах. Дія гіпертонічних розчинів добре вивчена для еритроцитів людини. Для них існують та багато років застосовуються певні протоколи заморожування. Еритроцити тварин менш вивчені в цьому плані. Роботи, що досліджують особливості еритроцитів тварин, вказують на існування значних відмінностей у складі мембрани, організації цитоскелет-мембранного комплексу цих клітин, тощо. Тому слід передбачати різну реакцію еритроцитів людини та тварин на дію стресових факторів навколишнього середовища.

Метою дослідження було вивчення впливу кріозахисної сполуки — гліцерину — на чутливість еритроцитів ссавців (людина, бик, кінь) до гіпертонічного шоку (4 М NaCl).

Клітини отримували шляхом триразового центрифугування в фізіологічному розчині (0,15 М NaCl, 10 мМ фосфатний буфер). Осад зберігали при 4°C та використовували протягом 3 годин. Еритроцити інкубували в розчинах гліцерину (0,2 — 2,0 М) протягом 1-10 хв, після чого аліквоту клітин переносили в 4 М NaCl. Експерименти проводилися при 37°C. Частку зруйнованих клітин визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 543 нм.

Показано, що у всьому діапазоні досліджуваних концентрацій гліцерину спостерігається підвищення рівню збереженості еритроцитів людини, бика і коня за умов гіпертонічного шоку. Захисна дія гліцерину залежить від концентрації і є максимальною при 2,0 М. В цих умовах гемолітичне пошкодження клітин людини знижується з 72±6% до 17±2%, бика — з 69±5% до 40±2%, коня — з 43±3% до 34±2%. Дослідження часової залежності інкубації з гліцерином встановило, що зростання захисної дії в умовах гіпертонічного шоку спостерігається протягом першої хвилини — для еритроцитів бика, протягом двох хвилин — для еритроцитів людини, протягом п'яти хвилин — для еритроцитів коня. Подальша інкубація з гліцерином не спричиняє змін в збереженості клітин. Виключенням є випадки, коли концентрація гліцерину становить: 0,75М — для еритроцитів бика та 1М — для еритроцитів людини. За умов інкубації у цих розчинах після попереднього росту спостерігається певне зниження показників збереженості.

Таким чином, інкубація еритроцитів у середовищах, що містять гліцерин запобігає пошкодженню еритроцитів ссавців в умовах гіпертонічного шоку. При цьому найбільший захисний ефект спостерігається для еритроцитів людини, найменший — для клітин коня. Відомо, що еритроцити бика є значно менш проникними для молекул гліцерину, ніж клітини людини і коня у межах досліджуваного часу. На підставі отриманих даних можна припустити, що захисна дія гліцерину в умовах осмотичного стресу базується на кількох механізмах. Для клітин, добре проникних для цього кріопротектора, — на механізмі заміщення внутрішньоклітинної води, для мало проникних клітин — на частковій дегідратації еритроцита. З цієї точки зору багато питань виникає щодо клітин коня, які добре проникні для гліцерину, але практично не змінюють рівень збереженості під його впливом. Ймовірно, існують певні особливості захисту, що пов'язані з видовими особливостями еритроцитів.