

Эритроцит как объект криобиологических исследований

Чабаненко Е.А.

*Кафедра биотехнологии Национальный фармацевтический университет,
г. Харьков, Украина*

Семионова Е.А., Шпакова Н.М.

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков,
Украина*

biotech_ukrfa@mail.ru

Актуальной проблемой криобиологии является разработка новых подходов к решению проблемы долговременного хранения клеток в условиях замораживания, а также совершенствование уже существующих методов. Эритроциты млекопитающих являются распространенным объектом криобиологических исследований. Интерес к эритроциту обусловлен важностью выполняемых им функций, основной из которых является транспортировка кислорода и углекислого газа. Функциональные характеристики эритроцита обусловлены особенностями его строения. Эффективность газообмена обеспечивается большой площадью поверхности, способность проходить через узкие капилляры, размеры которых меньше размера этой клетки – эластичностью эритроцитарной мембраны, а защита от активных форм кислорода осуществляется специальной ферментативной системой [1]. Кроме того, широкое использование эритроцитов обусловлено доступностью получения этих клеток и относительной простотой их строения (отсутствие ядра и внутриклеточных органелл), что значительно облегчает интерпретацию получаемых результатов.

Для оценки реакции эритроцитов на действие стрессовых факторов используют следующие методы: спектрофотометрия для определения содержания гемоглобина, вышедшего из эритроцитов в супернатант, световая микроскопия для регистрации изменения формы эритроцитов, ионометрия, атомно-абсорбционная спектрофотометрия и капиллярный электрофорез для определения содержания ионов калия и натрия, микрогематокритный метод для определения гематокрита эритроцитов. Метод ЭПР спектроскопии применяют для исследования состояния липидного бислоя и барьерной функции мембран эритроцитов, проточная цитофлуориметрия для оценки распределения фосфатидилсерина в мембране эритроцитов.

В криобиологических исследованиях в качестве модели повреждения клеточных мембран, приводящего к гибели клетки, используют явление гипотонического лизиса эритроцитов человека. Это явление, в определенной степени, реализуется на этапе отогрева замороженных клеточных суспензий, особенно в присутствии проникающих

криопротекторов. Для выяснения механизмов устойчивости эритроцитов человека к действию стрессовых факторов широко используется подход, связанный с направленной модификацией различных структурных и функциональных компонентов клетки. Эти изменения не являются узкоспецифичными и могут охватывать клетку в целом, т.е. приводить к нарушению ее нативности в той или иной степени. В связи с этим для исследования температурной и осмотической чувствительности клеток целесообразно использовать нативные эритроциты разных видов млекопитающих, которые отличаются по составу цитоплазмы, способности к деформации, активности транспортных путей, фосфолипидному и белковому составу мембраны [2-5].

Экспериментальное изучение гипотонического лизиса эритроцитов человека и животных позволяет выявить закономерности и особенности развития повреждения клеток млекопитающих при снижении осмоляльности среды и варьировании температуры. Поскольку эритроциты разных видов млекопитающих различаются размерами, внутриклеточным содержанием ионов, АТФ, воды, гидрофобностью гемоглобина, белково-липидным составом плазматических мембран и др.[2-5], то можно предположить, что чувствительность эритроцитов млекопитающих к изменению температуры и осмоляльности среды будет зависеть от видовых особенностей клеток.

Исходя из выше изложенного, можно сделать вывод, что изучение закономерностей температурной и осмотической устойчивости эритроцитов млекопитающих и разработка подходов, обеспечивающих повышение устойчивости клеток к действию стрессовых факторов, является актуальной проблемой криобиологии.

Использованная литература

1. Гильмутдинов Р. Я. Сравнительная гематология животных / Р. Я. Гильмутдинов, Р. Г. Ильязов, А. В. Иванов. – Казань : ФЭН, 2005. – 288 с.
2. A unique phospholipid organization in bovine erythrocyte membranes [Text] / J. Florin-Christensen, C. E. Suarez, M. Florin-Christensen [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – Vol. 98, № 14. – P. 7736–7741.
3. Benga G. Comparative studies of water permeability of red blood cells from humans and over 30 animal species: an overview of 20 years of collaboration with Philip Kuchel [Text] / G. Benga // Eur. Biophys. J. – 2013. – Vol. 42, № 1. – P. 33–46.
4. Matei H. Comparative studies of the protein composition of red blood cell membranes from eight mammalian species [Text] / H. Matei, L. Frentescu, Gh. Benga // J. Cell. Mol. Med. – 2000. – Vol. 4, № 4. – P. 270–276.
5. Steady-state volumes and metabolism-independent osmotic adaptation in mammalian erythrocytes [Text] / P. Bogner, K. Sipos, A. Ludany [et al.] // Eur. Biophys. J. – 2002. – 31, № 2. – P. 145–152.