

Вклад активности воды и адсорбции в осмотическое действие криопротекторов в суспензии эритроцитов лошади

В.Н. Кучков

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Contribution of Water Activity and Adsorption into Osmotic Effect of Cryoprotectants in Suspension of Equine Erythrocytes

V.N. KUCHKOV

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Активность воды (A_w) в системе определяется как отношение парциального давления водяного пара над раствором к давлению насыщенного пара над чистой водой при той же температуре. Данная величина показывает долю свободной воды в биологическом объекте. От соотношения свободной и связанной воды зависит характер процессов кристаллообразования в системе при замораживании.

В работе определяли активность воды в суспензиях эритроцитов лошади в присутствии 1,2-пропандиола (1,2-ПД) и диметилсульфоксида (ДМСО) в различных концентрациях. В таком криобиологическом аспекте эритроциты лошади, в отличие от эритроцитов человека, изучены недостаточно, хотя их криоконсервирование представляет интерес для ветеринарной медицины. Это послужило основанием для выбора данных клеток при проведении настоящих исследований.

Использовали экспериментальную установку на базе осмометра ОМКА 1С-01 с разработанной нами криоскопической ячейкой, позволяющей измерять температуру замерзания водных систем с погрешностью $\pm 0,006^\circ\text{C}$.

Установлено, что с повышением концентрации криопротекторов в суспензии эритроцитов от 0,1% и выше величина A_w линейно уменьшается. При низких концентрациях (менее 0,1%) существенное влияние на осмотическое действие криопротекторов в образце оказывают адсорбционные взаимодействия. Эффекты адсорбции 1,2-ПД и ДМСО на мембранах эритроцитов лошади оценивали по изменению величины A_w в суспензиях в области концентраций криопротекторов от 0,004 до 0,06%.

Показано, что в исследуемом концентрационном диапазоне зависимости $A_w = A_w(C)$ для рассматриваемых криопротекторов подобны и имеют форму кривой с перегибом, который обнаруживается при концентрации 0,015% для 1,2-ПД и 0,03% для ДМСО. Объяснением существования данных перегибов может быть конкуренция криопротектора с водой за места сорбции. В области концентраций более 0,04% для 1,2-ПД и 0,05% для ДМСО активность воды в системе зависит только от количества молекул криопротектора в единице объема.

Таким образом, экспериментально доказано существование двух концентрационных областей, в которых адсорбционные взаимодействия и активность воды определяют осмотическое действие криопротекторов в суспензии эритроцитов лошади. В области низких концентраций ключевым фактором, влияющим на осмотическое действие криопротекторов, является адсорбция. С ростом концентрации криопротектора вклад адсорбции уменьшается, а его осмотическое действие зависит от активности воды в суспензии.

Activity of water (A_w), is defined as the partial pressure of water vapor over the solution to pressure of saturated vapor over pure water at the same temperature. This value shows the free water share in biological object. Character of crystal forming processes in the system depends on ratio of free and bound water.

In this work the water activity in suspensions of equine erythrocytes at the presence of 1,2-propane diol (1,2-PD) and dimethylsulfoxide (DMSO) in different concentrations were determined. In contrary to human erythrocytes, equine erythrocytes have been studied insignificantly in cryobiology, though their cryopreservation is of interest for veterinary medicine. This served as the base for selection of these cells when carrying out these researches.

Experimental facility based on OMKA 1C-01 osmometer with developed by us cryoscopic cell, enabling to measure temperature of water systems freezing with an inaccuracy of $\pm 0.006^\circ\text{C}$ was used.

It has been established that with the increase of cryoprotectant concentrations from 0.1% and higher, A_w value linearly decreases. At low concentrations (lower than 0.1%) the effects of cryoprotectant adsorption on erythrocytes have been observed. Effects of 1,2-PD and DMSO cryoprotectants adsorption on A_w value in suspensions of equine erythrocytes within the range of cryoprotectants' concentrations from 0,004 to 0.06% were studied.

It has been shown that within the studied concentration range the $A_w = A_w(C)$ dependencies for the observed cryoprotectants are similar and are of bound curve, being at 0.015% concentration for 1,2-PD and 0.03% for DMSO. An explanation of these bends may be cryoprotectant competition with water for the sorption areas. Within the range of concentrations above 0.04% for 1,2-PD and 0.05% for DMSO the water activity in the system depends on cryoprotectant molecule number in a volume unit of the studied system.

Thus, the presence of two concentration areas, determining cryoprotectant effect on water activity in suspension of equine erythrocytes has been experimentally proved. Within the range of low concentrations the key factor of cryoprotectant effect on water activity is adsorption. With the growth of cryoprotectant concentration the adsorption decreases and osmotic action of cryoprotectant depends on water activity in suspension.