

монстрирует процессы миграции клеток и их оседлости. Специфическая локализация разных рецепторов лектинов свидетельствует об их функциональной значимости в процессах формообразования сердца как органа. В эндокардиальных подушках определяются тяжи мезенхимных клеток, которые имеют большее количество рецепторов к лектинам SNA. В атриоventрикулярном канале определяются массивы клеток, которые имеют большее количество рецепторов LABA.

Ключевые слова: кардиогенез, лектины, гистотопография.

UDC 611.12: 575.16 – 029.9

HETEROGENEITY the USE of LECTINS is in RESEARCHES of CARDOIGENESIS RATS and PLACENTA

Koshanuy V. V., Abdul-Oglu L. V.

Summary. For the study of carbohydrate specificity of cellular membranes in the heart of embryos of man studied distributing of receptors to lectins of bark of elder black (SNA) and vine grease iron (HPA), ovaries of wheat (WGA) and lectin of gold rain (LABA). Research is conducted on 18 preparations of heart of embryos of man from 6 to 16 week prenatal development. Preparation of cuts and stages of reaction was conducted after the generally accepted methods. Certain heterogeneity of fastening of lectins of SNA and HPA, WGA and LABA is in fabrics of different areas of embryo heart of man, that can control the processes of migration of cages and their settled way of life. Specific localization of different receptors of lectins testifies to their functional meaningfulness in the processes of formation of heart as oregano. Pool of cages of mesenchimal cages which have a greater amount of receptors to lectins of SNA is determined in endocardial pillows. Are the arrays of cages which have a greater amount of receptors of LABA with specificity to determined in a atrioventricular channe.

Key words: cardoigenesis, lectins, histotopography.

УДК 57.043: 611.018.51: 576.31

В.В. Рамазанов, Т.И. Дейнеко, Е.Л. Воловельская, В.А. Коптелов, В.А. Бондаренко

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ, ЗАМОРОЖЕННЫХ В КОМБИНИРОВАННОЙ СРЕДЕ С НЕПРОНИКАЮЩИМ И ПРОНИКАЮЩИМ КРИОПРОТЕКТОРАМИ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (г. Харьков)

Данная работа является фрагментом научной темы «Механизмы изменения осмотической и температурной чувствительности клеток при действии модификаторов цитоскелет-мембранного комплекса, амфифильных веществ и криопротекторов» (№ государственной регистрации 0104U006437).

Вступление. Эритроциты, замороженные в среде без криопротектора, имеют значительную степень повреждения, а оставшиеся клетки морфологически представлены сфероцитами, эхиноцитами и сфероэхиноцитами с миелиноподобными структурами от которых отделяются везикулы. Включение в среду замораживания декстрана обеспечивает предотвращение везикуляции и значительного гемолиза эритроцитов, при этом оставшиеся клетки морфологически представлены в основном дискоцитами с невысоким содержанием эхиноцитов, что характерно для интактных эритроцитов [13]. Однако такие морфологические показатели отмечаются для клеток, которые не отмывались от декстрана по-

сле замораживания. Эритроциты, отмывые от криоконсерванта, являются осмотически хрупкими по сравнению с интактными клетками [13], что, вероятно, связано с изменением объемно-морфологических параметров клеток. Сочетание декстрана с проникающим криопротектором (ДМСО или глюкоза) в среде обеспечивает сохранение удовлетворительной осмотической хрупкости эритроцитов после их замораживания и отмывания от криоконсерванта [3]. Кроме того, комбинирование в среде поливинилпирролидона с 1,2-пропандиолом позволяет получить после замораживания эритроциты, которые приближаются по форме к дискоцитам и образуют «монетные столбики» при переносе их в плазму [1].

Таким образом, сочетание в криоконсерванте непроникающих и проникающих криопротекторов обеспечивает положительный эффект относительно сохранения формы и осмотической хрупкости эритроцитов после замораживания.

Цель работы – оценить криозащитную эффективность комбинированной среды с непроникающим (декстран) и проникающим (ДМСО) криопротекторами при изучении морфологических свойств эритроцитов, отмытых от криоконсерванта после замораживания.

Объект и методы исследования. В работе использовали NaCl (х.ч.), сахарозу (ч.д.а.) и глюкозу (ч.д.а.). Трис и ЭДТА – производства Calbiochem, сывороточный альбумин человека – производства Reanal, декстран с молекулярной массой 35000 – производства Serva, диметилсульфоксид (ДМСО) – производства Sigma. Использовали ингибитор анионного канала 4,4'-диизотиоцианатостильбен-2,2'-дисульфонат (ДИДС) и сульфгидрильный реагент N-этилmaleимид (НЭМ) – производства Serva, гемин – производства Sigma.

Среды замораживания готовили на сахарозо-солевом растворе, содержащем 0,3% NaCl + 6,85% сахарозы. Криоконсерванты содержали декстран (20%) или декстран в комбинации с ДМСО (7%) и глюкозой (2%).

Эритроциты человека получали из донорской крови четырехкратным отмыванием раствором, содержащим 0,9% NaCl.

Образцы эритроцитов в стальных плоских гофрированных контейнерах объемом 120 мл с гематокритом 40% инкубировали 40 мин при 25°C, затем их погружали в жидкий азот (-196°C) и хранили в течение 3-х месяцев. Контейнеры после замораживания и хранения перенесли на водяную баню при 40°C на 5 мин. После отогрева размороженную суспензию, медленно с перемешиванием, разводили теплым (37°C) физиологическим раствором NaCl (0,9%) в 10 раз в течение не менее 30 секунд и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 мин с последующим удалением надосадочной жидкости. Данную процедуру повторяли ещё один раз. После этого, без учета скорости разведения осадка эритроцитов, клетки дополнительно 3 раза отмывали физиологическим раствором NaCl при 37°C.

Процент гемолиза эритроцитов вычисляли после спектрофотометрического определения оптической плотности в супернатанте образцов при длине волны 543 нм по формуле [11]:

$$\% \text{ гемолиза} = [A1/A2] \times 100, \text{ где}$$

A1 – оптическая плотность супернатанта экспериментального образца;

A2 – оптическая плотность при полном гемолизе контрольного образца после добавления детергента Triton X-100 в концентрации 0,1 %.

Для обработки модификаторами эритроциты с 20 %-м гематокритом суспендировали в среде, содержащей: KCl – 90, NaCl – 45, сахарозу – 44, Трис – 10 ммоль/л (pH 7,4). В суспензию добавляли N-этилmaleимид в концентрации 12 ммоль/л и инкубировали в течение 60 мин при 37°C [8]. Гемин добавляли в концентрации 300 мкмоль/л и инкубировали в течение 10 мин при 37°C [14]. По

истечении времени эритроциты отмывали 5 раз средой для обработки и до момента использования держали на ледяной бане.

Морфологию эритроцитов изучали с помощью светового микроскопа. Клетки суспендировали в физиологическом растворе NaCl с гематокритом 1,7%. Вносили реагенты – ДИДС, альбумин и плазму в концентрации 50 мкмоль/л, 1% и 23%, соответственно. Взвесь перемешивали и через 2 мин тестировали изменения морфологии эритроцитов в световом микроскопе.

Изменение формы эритроцитов в среде, содержащей 0,15 моль/л NaCl, 10 ммоль/л трис (pH 7,4), исследовали методом регистрации флуктуации оптической плотности (ОП) взвешенных в растворе эритроцитов при перемешивании клеточной суспензии в кювете с частотой 5,0-7,1 Гц. Исследование проводили на спектрофотометре (СФ-4А), сопряженном с самописцем (регистрация уровня и флуктуации ОП клеточных суспензий при длине волны 720 нм). ОП суспензии эритроцитов в экспериментах составляла 0,3-0,35 единиц, что соответствовало гематокриту 0,02% (~3,0×10⁶ кл./мл) [5].

Результаты исследований и их обсуждение. Интактные эритроциты, отмывые физиологическим раствором NaCl представлены дискоцитами, стоматоцитами и эхиноцитами (**рис. 1, фото 1**). Включение в среду плазмы или альбумина вызывает изменение формы клеток, и основная часть эритроцитов представлена дискоцитами (**рис. 1, фото 2,3**). Присутствие в среде ингибитора анионного канала ДИДС приводит к образованию сфероэхиноцитов и сфероцитов (**рис. 1, фото 4**). Степень повреждения эритроцитов, отмывых после замораживания в среде, содержащей декстран, составляет 39-45%, а оставшиеся клетки морфологически представлены сфероцитами (**рис. 1, фото 5**). Присутствие в среде альбумина или плазмы вызывает изменение формы эритроцитов и клетки становятся в основном эхиноцитами (**рис. 1, фото 6,7**). При этом ДИДС не изменяет форму эритроцитов (**рис. 1, фото 8**).

Процедура отмывания эритроцитов обычно приводит к гемолизу клеток, значительно поврежденных при замораживании-отогреве, а также к осмотическому повреждению оставшейся части эритроцитов, которая становится осмотически хрупкой. При этом происходит отмывание не только криоконсерванта и гемолизированных клеток, но и миелопоподобных структур и образовавшихся везикул, которые выявляются в размороженной клеточной суспензии не отмывтой от криоконсерванта [13].

Отмывание эритроцитов после замораживания в среде с декстраном, ДМСО и глюкозой приводит к относительно невысокой степени повреждения (6-10%), а оставшиеся клетки представлены в основном эхиноцитами (**рис. 2, фото 1**).

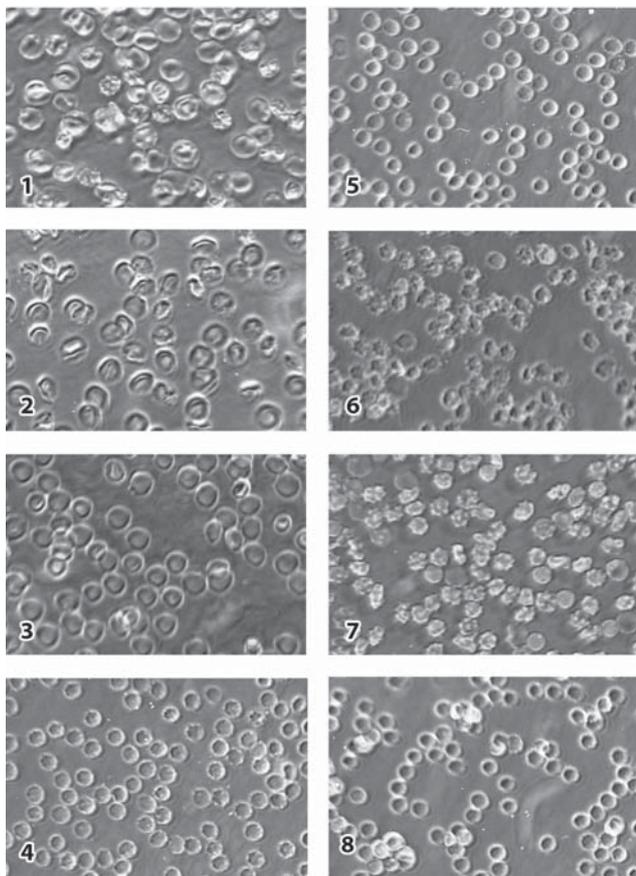


Рис. 1. Морфологія еритроцитів в середі, що містить 0,9% NaCl: 1-4 – інтактні клітки; 5-8 – клітки, отмиті після заморожування в середі, що містить декстран (20%). 2,6 – при наявності плазми (23%); 3,7 – при наявності альбуміна (1 %); 4,8 – в присутстві ДІДС (50 мкмоль/л).

Включення плазми або альбуміну викликає зміну форми кліток, і основна частина еритроцитів набуває форми дискоцитів (рис. 2, фото 2,3). Присутство в середі ДІДС призводить до утворення сфероцитів (рис. 2, фото 4). Таким

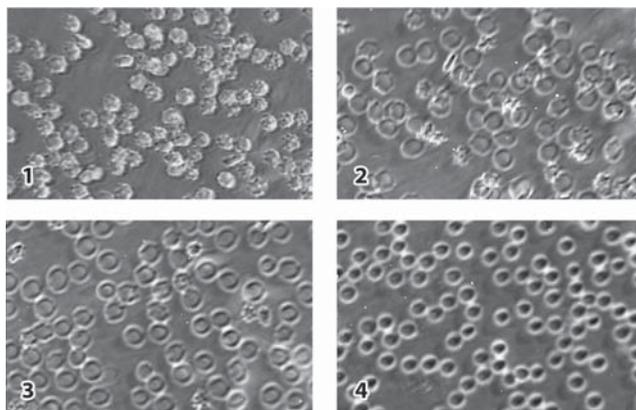


Рис. 2. Морфологія еритроцитів, отмитих після заморожування в середі з декстраном (20%), ДМСО (7%) і глюкозою (2%). 2 – при наявності плазми (23%); 3 – при наявності альбуміну (1 %); 4 – в присутстві ДІДС (50 мкмоль/л).

образом, заморожування еритроцитів в рідкому азоті в середі, що містить декстран, призводить до високої ступеня їх пошкодження, а залишилася частина кліток морфологічно представлена сфероцитами. Комбінування в середі декстрана з проникаючими криопротекторами (ДМСО і глюкоза) забезпечує невисоку ступень пошкодження еритроцитів, залишаються клітки являються ехіноцитами, що зберігають здатність стати дискоцитами під впливом плазми і альбуміну. Це вказує на те, що еритроцити, заморожені в комбінованому криоконсерванті, зможуть відновити свою функціональну повноту після потрапляння в кров'яне русло.

При зміні форми еритроцитів від асиметричних форм (дискоцити і неправильні форми) до симетричних (сфероцити, сфероэхіноцити, сферостоматоцити) інтенсивність виходячого світлового потоку через перемішувальну суспензію еритроцитів зменшується. Інтенсивність флуктуації ОП кліткової суспензії визначається співвідношенням асиметричних і симетричних форм еритроцитів. Чим вище вміст асиметричних форм кліток, тим сильніше флуктуація ОП і навпаки [5, 9]. Таким чином, використовуючи даний підхід, можна оцінити зміну форми еритроцитів.

На рис. 3 представлені результати впливу ДІДС на флуктуацію оптичної щільності (ОП) суспензії еритроцитів, отмитих після заморожування в середі різного складу, а також кліток, модифікованих за цитоскелетом. Не виявляється суттєвої різниці в інтенсивності флуктуації ОП суспензії еритроцитів, заморожених в різних середі.

Внесення в суспензію інтактних еритроцитів ДІДС призводить до усунення флуктуації ОП і деякого підвищення ОП (рис. 3, дорожка 4). Вплив ДІДС на суспензію еритроцитів, заморожених в середі декстраном, суттєво ослаблюється порівняно з інтактними клітками (рис. 3, дорожка 1). Додатково включення ДМСО або ДМСО з глюкозою в середі заморожування з декстраном забезпечує збереження ефекту ДІДС на флуктуацію ОП суспензії еритроцитів, отмитих після заморожування, цей ефект порівняємо з таким для інтактних еритроцитів (рис. 3, дорожки 2,3).

Після обробки еритроцитів НЕМ, ефект ДІДС повністю усувається, при цьому інтенсивність флуктуації ОП суттєво не змінюється (рис. 3, дорожка 5). Модифікація еритроцитів гемином трохи знижує інтенсивність флуктуації ОП суспензії таких кліток і значно зменшує проявлення ефекту ДІДС (рис. 3, дорожка 6).

Відомо, що альбумін є стабілізатором дискоїдних форм еритроцитів за рахунок модифікації електростатичної структури поверхні клітки [9]. Ефект сфероцитуючих агентів усувається плазмою або альбуміном [9]

так же, как и эхиноцитоз, индуцированный осмотическим воздействием [2]. Полученные результаты действия альбумина на морфологию эритроцитов, замороженных в комбинированной среде с декстраном, ДМСО и глюкозой согласуются с указанными данными литературы (рис. 2, фото 1-3). В то же время, эритроциты, замороженные в среде с декстраном, морфологически являются сфероцитами, а действие плазмы и альбумина не приводит к образованию дискоцитов (рис. 1, фото 5-7).

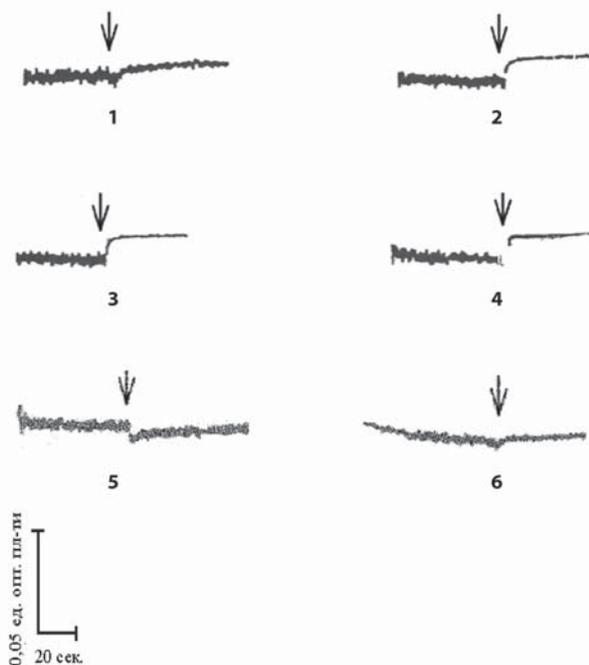


Рис. 3. Влияние ДИДС на флуктуацию оптической плотности суспензии эритроцитов. Эритроциты заморожены в среде, содержащей: 1 – декстран (20%); 2 – декстран (20%) + ДМСО (7%); 3 – декстран (20%) + ДМСО (7%) + Глюкоза (2%). 4 – интактные клетки; 5,6 – эритроциты обработаны НЭМ и геминном, соответственно. Стрелками показаны моменты внесения ДИДС (5 мкмоль/л) в спектрофотометрическую кювету.

Связывание ингибитора анионного канала ДИДС с белком полосы 3 (анионный переносчик, анионный канал) приводит к распаду его тетрамеров на димеры и ослаблению связи липидного бислоя мембраны с цитоскелетом [16]. Вероятно, сфероцитоз эритроцитов в присутствии ДИДС (рис. 1,2) вызван нарушением указанной связи. Возможно, при замораживании в среде с декстраном сфероцитоз эритроцитов (рис. 1, фото 5) определяется нарушением связи цитоскелета с мембраной.

Анионный канал мембран эритроцитов окружен анулярными липидами, которые находятся в «жидкокристаллическом» состоянии, что необходимо для нормального функционирования канала [15]. ДИДС существенно повышает термическую устойчивость данной фракции липидов после связывания в анионном канале [15]. Связывание ДИДС с белком полосы 3 приводит к

изменению формы эритроцитов на эхиноакантоциты [6], эхиноциты [17] или сфероциты [4]. При связывании данного ингибитора происходит изменение конформации переносчика с переориентацией транспортных сайтов анионного канала на внешнюю сторону мембраны [12]. Предполагается, что реакция переориентации транспортных сайтов с внутренней стороны на внешнюю сторону мембраны необходима для эффекта ДИДС на форму эритроцитов [4].

Описанные данные литературы указывают на то, что ДИДС является модификатором структурного состояния белка полосы 3, липидных компонентов мембраны, а также модификатором взаимодействия цитоскелета с мембраной, что в сумме приводит к изменению формы эритроцитов.

Предложен механизм контроля формы эритроцитов, в котором уровень агрегатного состояния белков цитоскелета определяется соотношением двух основных конформаций белка полосы 3, которые в свою очередь зависят от характера распределения анионов по обе стороны мембраны [17]. Согласно этому эхиноцитоз эритроцитов проявляется тогда, когда значительная часть переносчиков находится в конформации с транспортным сайтом, обращенным на внутреннюю сторону мембраны и при этом цитоскелет находится в сокращенном состоянии, а белок полосы 3 образует комплекс с гликофоринами А и С [17]. В соответствии с данной моделью показано, что эхиноцитоз и стоматоцитоз эритроцитов, индуцируемый амфифильными реагентами и детергентами, устраняется вследствие ингибирования транспорта анионов [17]. Возможно, что начальной реакцией изменения формы эритроцитов в физиологических условиях является изменение локальной концентрации анионов на поверхности эритроцитов из-за изменения степени экранирования альбумином положительных зарядов у входа в анионный канал. Вследствие этого происходит перераспределение транспортных сайтов анионного переносчика между внутренней и внешней сторонами мембраны, изменение степени агрегации белков цитоскелета, которые в итоге определяют и стабилизируют кривизну внешнего монослоя мембраны и форму эритроцитов [17].

Исследование роли цитоскелета в стабильности и форме изолированных мембран показало, что цитоскелет стабилизирует кривизну мембраны, но не является ответственным для ее кривизны [10]. Эти данные вполне согласуются с моделью, в которой модификация состояния цитоскелета является конечным шагом в последовательности реакций, которые приводят к изменению формы эритроцитов [17]. В стабилизации состояния цитоскелета и соответствующих форм эритроцитов, возможно, включаются мембранные SH-группы за счет образования дисульфидных связей и повышения сдвиговой устойчивости мембраны [7].

Обработка эритроцитов НЭМ блокирует 80% мембранных SH-групп [8], которые включают SH-группы, локализованные на молекулах спектрина, что приводит к ингибированию реакции ассоциации димеров спектрина в тетрамеры с полным распадом последних [18]. Обработка эритроцитов гемином приводит к нарушению связи белка полосы 4.1 со спектрином и актином и снижению механической устойчивости мембран и изолированных цитоскелетов [14]. В связи с этими данными литературы НЭМ и гемин можно считать модификаторами цитоскелета эритроцитов, на что также указывают результаты действия ДИДС на флуктуацию ОП клеточной суспензии. Модификация эритроцитов данными реагентами приводит к изменению эффекта ДИДС на флуктуацию ОП (рис. 3).

На основе представленных данных литературы и полученных результатов можно предположить, что морфотрансформирующее действие ДИДС определяется модификацией взаимодействия белка полосы 3 с цитоскелетом.

Таким образом, изучение морфологических свойств замороженных эритроцитов показало криозащитную эффективность комбинированной среды с непроникающим и проникающим криопротекторами. Сравнение результатов, полученных при действии ДИДС на замороженные и модифицированные по цитоскелету эритроциты, показывает, что эритроциты, замороженные в среде с декстраном, имеют повреждения в цитоскелете или во взаимодействиях цитоскелета с мембраной. Для того чтобы ослабить такие повреждения, криоконсервант должен дополнительно содержать ДМСО и глюкозу.

Выводы.

1. Интактные эритроциты в физиологической растворе NaCl представлены дискоцитами, стоматоцитами и эхиноцитами тогда как клетки, отмытые после замораживания в среде с декстраном, представлены сфероэхиноцитами. В среде, содержащей альбумин или плазму, интактные клетки представлены в основном дискоцитами с невысоким содержанием стоматоцитов. При этом замороженные эритроциты, представлены в основном эхиноцитами.

2. Эритроциты, замороженные в комбинированной среде с декстраном

ДМСО и глюкозой, морфологически представлены эхиноцитами. Включение в среду альбумина или плазмы приводит к преобразованию формы и клетки становятся в основном дискоцитами.

3. Модификация эритроцитов гемином или НЭМ, а также замораживание в среде с декстраном приводит к ослаблению эффекта ДИДС на флуктуацию оптической плотности суспензии модифицированных или замороженных клеток. Включение в состав криоконсерванта ДМСО и глюкозы обеспечивает сохранение указанного эффекта ДИДС, что, вероятно, связано с сохранением удовлетворительного состояния цитоскеле-

та при замораживании эритроцитов в комбинированном криоконсерванте с непроникающим и проникающим криопротекторами.

Перспективы дальнейших исследований. В последующей работе планируется исследовать морфологические свойства эритроцитов, замороженных в комбинированной среде с полиэтиленгликолем и ДМСО.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Междов С.Х. Влияние сочетания поливинилпирролидона и 1,2-пропандиола на сохранность эритроцитов при криоконсервировании / С.Х. Междов, И.М. Беляева, А.М. Воротилин, В.А. Моисеев // Проблемы криобиологии. – 1996. – № 2. – С. 22–25.
2. Панталер Е.Р. Дослідження стійкості дегідратованих еритроцитів до дії осмотичного та механічного стресу // автореф. дис. канд. біол. наук : спец. 03.00.19 «криобиологія» / Е.Р. Панталер. – Харків. 1995. – 24 с.
3. Рамазанов В.В. Осмотические свойства эритроцитов, замороженных в средах с непроникающими и проникающими криопротекторами / В.В. Рамазанов В.А. Бондаренко // Проблемы криобиологии. – 2010. – Т. 20, №1 – С. 47–58.
4. Рамазанов В.В. Изменение формы эритроцитов под действием ингибитора анионного канала / В.В. Рамазанов, О.А. Шапкина, В.А. Бондаренко // Вісник проблем біології і медицини. – 2010. – Вип. 4 – С. 135–141.
5. Руденко С.В. Изменение формы эритроцитов в зависимости от времени / С.В. Руденко, Дж.Х. Кроув, Ф. Таблин // Биохимия. – 1998. – Т. 63, Вып. 12. – С. 1630–1639.
6. Eaton J.W. Anion channel blockade: Effects upon erythrocyte membrane calcium response / J.W. Eaton, N.F. Branda, C. Hadland, K. Dreher // Am. J. Hematol. – 1980. – Vol. 9. – P. 391–399.
7. Haest C.W.M. Stabilization of erythrocyte shape by a chemical increase in membrane shear stiffness / C.W.M. Haest, T.M. Fischer, G. Plasa, B. Deuticke // Blood Cells. – 1980. – Vol. 6, № 3. – P. 539–553.
8. Haest C.W.M. Topology of membrane sulfhydryl groups in the human erythrocyte. Demonstration of a non-reactive population in intrinsic proteins / C.W.M. Haest, D. Kamp, B. Deuticke // Biochim. Biophys. Acta. – 1981. – Vol. 643. – P. 219–326.
9. Hoffman J.F. On the mechanism and measurement of shape transformations of constant volume of human red blood cells / J.F. Hoffman // Blood Cells. – 1987. – Vol. 12, № 3. – P. 565–588.
10. Lange J. Role of the reticulum in the stability and shape of the isolated human erythrocyte membrane / J. Lange, R.A. Hadesman, T.L. Steck // The J. Cell Biol. – 1982. – Vol. 92. – P. 714–721.
11. Mazur P. Survival of frozen-thawed human red cells as a function of the permeation of glycerol and sucrose / P. Mazur, R.H. Miller // Cryobiology. – 1976. – Vol. 13, № 5. – P. 523–536.
12. Passow H. Molecular aspects of band 3 protein mediated anion transport across the red blood cell membrane / H. Passow // Rev Physiol Biochem Pharmacol. – 1986. – Vol. 103. – P. 61–203.
13. Pellerin-Mendes C. In vitro study of the protective effect of trehalose and dextran during freezing of human red blood cells in liquid nitrogen / C. Pellerin-Mendes, L. Million, M. Marchand-Arvier, P. Labrude, C. Vigneron // Cryobiology. – 1997. – Vol. 35, № 2. – P. 173–186.
14. Shaklai N. Disintegration of red cell membrane cytoskeleton by hemin / N. Shaklai, N. Avissar, E. Rabizaden, M. Shaklai // Biochem. Internat. – 1986. – Vol. 13, № 3. – P. 467–477.
15. Snow J.W. The effects of anion transport inhibitors on structural transitions in erythrocyte membranes / J.W. Snow, J.F. Brandts, P.S. Low // Biochim Biophys Acta. – 1978. – Vol. 512, № 3. – P. 579–591.
16. Van Dort H.M. Effect of band 3 subunit equilibrium on the kinetics and affinity of ankyrin binding to erythrocyte

- membrane vesicles / H.M. Van Dort, R. Moriyama, P.S. Low // J Biol Chem. — 1998. — Vol.273, № 24. — P. 14819–14826.
17. Wong P. A basis of echinocytosis and stomatocytosis in the disc–sphere transformations of the erythrocyte / P. Wong // J Theor Biol. — 1999. — Vol. 196, № 3. — P. 343–361.
18. Yang M. Effect of sulfhydryl reagents on spectrin states on the erythrocyte membrane / M. Yang // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1993. — Vol. 192, № 2. — P. 918–925.

УДК 57.043: 547.42: 611.018.51

МОРФОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕРИТРОЦИТІВ, ЩО ЗАМОРОЖУВАЛИ У КОМБІНОВАНИХ СЕРЕДОВИЩАХ ІЗ НЕПРОНИКАЮЧИМ ТА ПРОНИКАЮЧИМ КРІОПРОТЕКТОРАМИ

Рамазанов В.В., Дейнеко Т.І., Воловельская Е.Л., Коптелов В.О., Бондаренко В.А.

Резюме. Досліджували криозахисну ефективність різноманітних середовищ, оцінюючі морфологічні властивості еритроцитів, що заморожували. Встановлено, що еритроцити, відмиті після заморожування у комбінованому середовищі з декстраном, ДМСО та глюкозою морфологічно представлені ехіноцитами, однак у присутності альбуміну або плазми клітини перетворюються у дискоцити. Отримані результати вказують на те, що еритроцити, які заморожували у даному середовищі, зможуть відновлювати власну функціональну повноцінність після потрапляння у кров'яне русло.

Ключові слова: еритроцити, морфологія, заморожування.

УДК 57.043: 547.42: 611.018.51

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ, ЗАМОРОЖЕННЫХ В КОМБИНИРОВАННОЙ СРЕДЕ С НЕПРОНИКАЮЩИМ И ПРОНИКАЮЩИМ КРИОПРОТЕКТОРАМИ

Рамазанов В.В., Дейнеко Т.И., Воловельская Е.Л., Коптелов В.А., Бондаренко В.А.

Резюме. Исследовали криозащитную эффективность различных сред при оценке морфологических свойств замороженных эритроцитов. Установлено, что эритроциты, отмытые после замораживания в комбинированной среде с декстраном, ДМСО и глюкозой морфологически представлены эхиноцитами, однако в присутствии альбумина или плазмы клетки преобразуются в дискоциты. Полученные результаты указывает на то, что эритроциты, замороженные в данной среде, смогут восстанавливать свою функциональную полноценность после попадания в кровяное русло.

Ключевые слова: эритроциты, морфология, замораживание.

UDC 57.043: 547.42: 611.018.51

MORPHOLOGICAL PROPERTIES of ERYTHROCYTES FROZEN in COMBINED MEDIUM with NON-PENETRATING CRYOPROTECTANTS

Ramazanov V.V., Deyneko T.A., Volovelskaya Ye.L., Koptelov V.A., Bondarenko V.A.

Summary. Cryoprotective efficiency of different media when assessing the morphological properties of frozen erythrocytes was studied. It has been established that erythrocytes washed-out after freezing in the combined medium with dextran, DMSO and glucose are presented by echinocytes, however in presence of albumin or plasma the cells transform into discocytes. The findings point to the fact that erythrocytes frozen in this medium will be able to recover their functional integrity after entering into blood channel.

Key words: erythrocytes, morphology, freezing.

Стаття надійшла 7.02.2011 р.