

ПРОЯВЛЕНИЕ И ОСЛАБЛЕНИЕ ПОСТГИПЕРТОНИЧЕСКОГО СТРЕССА ПРИ ЗАМОРАЖИВАНИИ ЭРИТРОЦИТОВ**Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (г. Харьков)**

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

Вступление. При быстром замораживании-отогреве эритроцитов с высоким гематокритом, по сравнению с низким гематокритом, отмечается большая степень повреждения эритроцитов из-за прироста постгипертонического стресса при отогреве [9]. Следовательно, сравнительное замораживание с высоким и низким гематокритом может являться моделью для исследования постгипертонического стресса и выявления методических подходов для ослабления его повреждающего действия.

Повреждение эритроцитов при постгипертоническом воздействии зависит от температуры ресуспендирующих растворов, повышение температуры до 35-37°C приводит к уменьшению степени постгипертонического гемолиза [16].

Использование в среде замораживания проникающих криопротекторов с высокой концентрацией требует отмывания их перед трансфузией эритроцитов гипертоническими растворами [1]. Данная процедура приводит к осмотическому повреждению клеток, которые не могут храниться длительное время [15]. Поэтому возникает задача разработки криоконсервантов, которые не только будут обеспечивать сохранение осмотических свойств эритроцитов при замораживании-отогреве, но и упрощать их отмывание от криоконсерванта после замораживания с исключением использования гипертонических растворов.

При использовании невысоких концентраций проникающих криопротекторов в среду замораживания необходимо включать сахарозу или полимерные криопротекторы. Существует ряд криоконсервантов, которые содержат сахарозу [3]. Это указывают на то, что сахарозо-солевая среда является эффективной основой для криоконсервантов.

Следовательно, комбинирование в среде замораживания сахарозы с проникающим криопротектором может обеспечить использование невысокой концентрации последнего, что позволит отмывать эритроциты после замораживания одним изотоническим раствором NaCl, исключая гипертонические растворы. При этом отмывание необходимо производить при 35-37°C для того, чтобы ослабить

последствие повреждающего действия постгипертонического стресса.

Цель работы – исследовать поток ионов H^+ и барьерную функцию мембран для глутатиона в эритроцитах, отмывтых после замораживания в средах с сахарозой, декстраном, глюкозой и 1,2-ПД.

Объект и методы исследования. В работе использовали NaCl (х.ч.), глюкозу (х.ч.), сахарозу (ч.д.а.), декстран с молекулярной массой 35000 производства Serva и 1,2-пропандиол (1,2-ПД) производства Германия.

Эритроциты получали из крови II группы от доноров мужского пола. Образцы эритроцитов в стальных контейнерах объемом 1 мл с гематокритом 0,8% и 40% инкубировали 30 мин при 25°C, погружали в жидкий азот (-196°C) и выдерживали 30 мин. После замораживания контейнеры переносили на водяную баню при 40°C на 3 мин (процедура быстрого замораживания-отогрева). После отогрева размороженную суспензию (1 мл), медленно перемешивая, 10-кратно разводили теплым (37°C) изотоническим раствором NaCl (0,9%) в течение не менее 30 сек и центрифугировали при 3000 об/мин 5 мин с последующим удалением надосадочной жидкости. Данную процедуру повторяли. Затем клетки 3 раза отмывали изотоническим раствором NaCl (0,9%) при 37°C.

Транспорт ионов H^+ в эритроцитах в сульфатной среде (0,11 ммоль/л Na_2SO_4) исследовали в термостатируемой ячейке (37°C) с рН-электродом при постоянном перемешивании клеточной суспензии [4].

Концентрацию глутатиона определяли с использованием 5,5-дителиобис 2-нитробензойной кислоты в щелочной среде по методу [7].

Статистические расчеты выполняли на основе результатов, полученных на эритроцитах 5-ти доноров. Данные представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка. Для определения статистической достоверности результатов использовали непараметрический метод Манна-Уитни при $p < 0,05$ [2].

Результаты исследований и их обсуждение.

При замораживании-отогреве эритроцитов в среде с сахарозой степень повреждения зависит от гематокрита. При высоком гематокрите гемолиз выше, чем при низком гематокрите (**табл. 1**). Этот эффект определяется приростом постгипертонического стресса на стадии отогрева суспензии эритроцитов, замороженных с высоким гематокритом [9].

Таблица 1

Степень гемолиза эритроцитов в цикле замораживания-отогрева в различных средах с низким и высоким гематокритом

Гематокрит		Среды замораживания			
		0,3% NaCl + 6,85% сахарозы	0,3% NaCl +6,85% Сахарозы +10% декстрана	0,3% NaCl +6,85% сахарозы +5% 1,2-ПД	0,3%NaCl +6,85% сахарозы +5% глюкозы
0,8%	Гемолиз, %	36,0±6,0	20±4,0	24,0±3,3	22,0±3,0
40%		63,0±4,0	36±5,0	27,0±4,0	24,0±3,0

Включение в среду декстрана приводит к снижению степени гемолиза клеток, однако различие в степени гемолиза при замораживании с высоким и низким гематокритом остается (табл. 1). Включение в среду с сахарозой 1,2-пропандиола (1,2-ПД) или глюкозы приводит не только к снижению степени гемолиза эритроцитов, но и к устранению различия в степени гемолиза при замораживании с высоким и низким гематокритом, т.е. к ослаблению постгипертонического стресса в случае высокого гематокрита (табл. 1).

При отмывании эритроцитов после замораживания в среде с декстраном отмечается значительный гемолиз, потеря глутатиона и повышение скорости потока ионов H⁺ в оставшихся клетках (табл. 2). Замораживание эритроцитов в среде с 1,2-ПД или глюкозой также приводит к значительному гемолизу, однако в отмывтых после замораживания клетках содержание глутатиона и скорость потока ионов H⁺ незначительно отличаются от таковых величин в интактных эритроцитах (табл. 2).

Таблица 2

Степень гемолиза, концентрация глутатиона и поток ионов H⁺ в эритроцитах, отмывтых после замораживания в различных средах

Среды замораживания	Гемолиз%	Содержание глутатиона, мкмоль/г Hb		Поток ионов H ⁺ (моль/кг клетокЧс)	
		До отмывания криоконсерванта	После отмывания криоконсерванта	JoutЧ107	JinЧ107
0,3% NaCl+ 6,85% сахарозы +10% декстрана	61±4,0	11,2±1,3	5,5±1,8	7,80±0,56	6,28±0,60
0,3% NaCl+ 6,85% сахарозы +5% 1,2-ПД	58,0±4,3	10,7±1,5	8,1±1,3	6,50±0,62	4,75±0,45
0,3% NaCl+ 6,85% сахарозы +5% глюкозы	60,0±5,5	11,5±1,4	9,5±1,3	6,60±0,70	4,68±0,55
Интактные клетки		10,5±1,6		5,43±0,56	4,02±0,42

Таким образом, эритроциты, отмывтые после замораживания в среде с сахарозой и декстраном или сахарозой и 1,2-ПД (глюкозой), имеют значительную степень повреждения, однако вторая среда способствует сохранению осмотических свойств оставшихся после отмывания клеток.

Возникает вопрос о механизме криозащитной эффективности среды, содержащей непроникающей (сахароза) и проникающие (1,2-ПД, глюкоза) в клетки компоненты.

Имеющиеся теоретические представления о состоянии клеток при замораживании позволяют оценить влияние различного состава среды и концентрации клеток в среде на осмотическое поведение клеток и суспензии в целом в ходе замораживания [10].

При различии исходного гематокрита между двумя предполагаемыми образцами (0,8% и 40%), расчетные кривые роста концентрации клеток в ходе кристаллизации воды в сахарозо-солевой

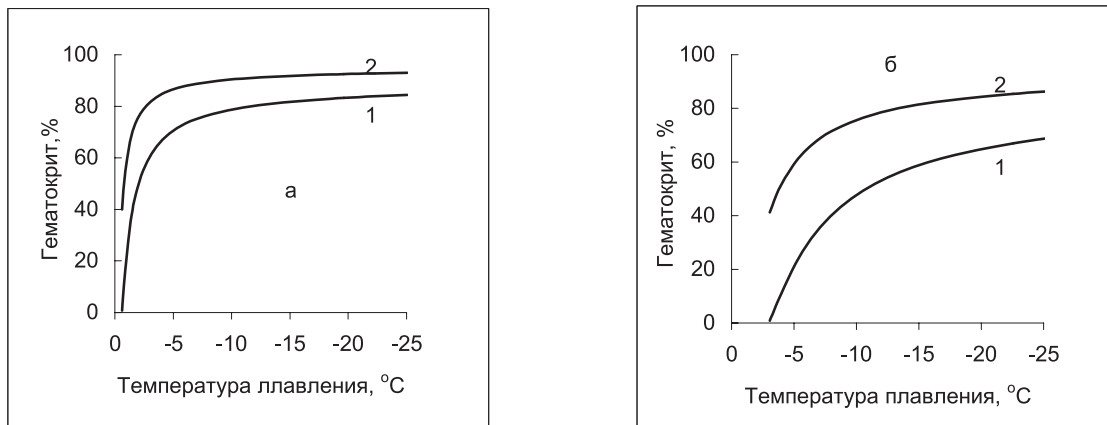


Рис. 1. Рост концентрации эритроцитов в среде при замораживании с различным гематокритом (1-0,8%, 2-40%) в средах: а – 0,3%NaCl+6,85% сахарозы; б – 0,3%NaCl+6,85% сахарозы+5% 1,2-ПД.

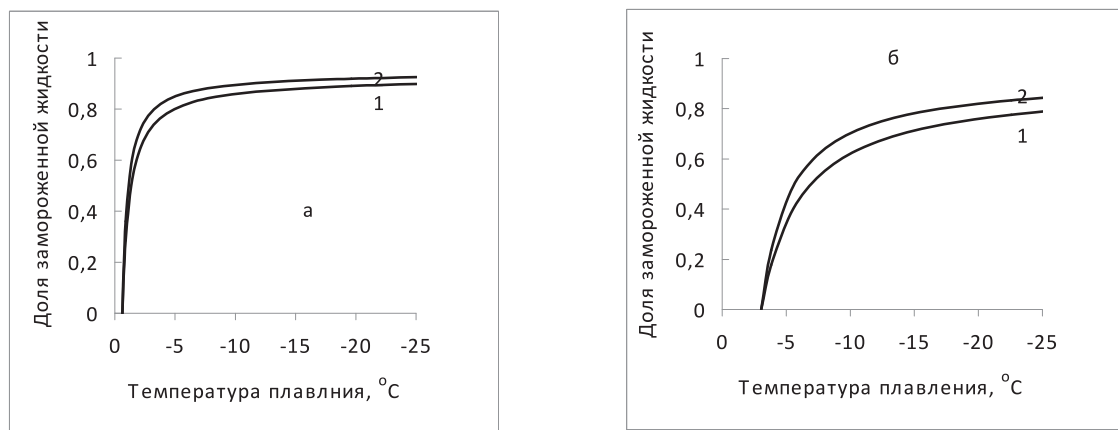


Рис. 2. Рост доли замороженной жидкости в среде при охлаждении суспензии эритроцитов с различным гематокритом (1-0,8%, 2-40%) в средах: а – 0,3%NaCl+6,85% сахарозы; б – 0,3%NaCl+6,85% сахарозы+5% 1,2-ПД.

среде различаются между собой по уровню. При этом концентрация клеток в точке плавления -25°C достигает 84% и 93% для суспензии с низким и высоким начальным гематокритом, соответственно (рис. 1, а).

Включение в сахарозо-солевую среду 1,2-ПД приводит к изменению кривых роста концентрации клеток в зависимости от температуры. Интенсивность роста концентрации клеток в среде ослабляется как при низком, так и при высоком начальном гематокрите. При низком начальном гематокрите концентрация клеток достигает 70% при высоком гематокрите – 87% в точке плавления раствора -25°C . В результате отмечается большее различие между кривыми на всех участках (рис. 1, б).

Замораживание суспензии эритроцитов приводит к вымораживанию основной части жидкости при -5°C . В суспензии с высоким гематокритом доля замороженной жидкости несколько выше, чем при низком гематокрите (рис. 2, а).

Включение в среду 5% 1,2-ПД приводит к изменению кривых роста замороженной жидкости.

Во-первых, точка начала роста кривой понижается до температуры $\sim -3^{\circ}\text{C}$, во-вторых, интенсивность роста доли замороженной жидкости резко снижается (рис. 2, б).

Следовательно, расчеты показали, что включение 1,2-ПД в сахарозную среду приводит к замедлению роста и снижению уровня концентрирования клеток в ходе замораживания за счет ослабления интенсивности концентрирования среды замораживания.

При замораживании суспензии эритроцитов со скоростью ниже $100^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ дегидратация клеток обеспечивает поддержание осмотического равновесия между клетками и незамороженной гипертонической средой [10]. При увеличении скорости охлаждения будет отмечаться осмотический дисбаланс между клетками и гипертонической средой. При этом концентрация внутриклеточных компонентов и осмолярность внутриклеточного содержимого будет ниже, чем осмолярность внешней среды [10]. В данном случае изменения показателей гематокрита, возможно, будут превышать таковые показатели для равновесных условий. Тем не менее при

охлаждении суспензии клеток со скоростью выше 100°С/мин различия в изменении гематокрита могут оставаться такими же, как это представлено для осмотически равновесных условий (рис. 1).

При замораживании эритроцитов в среде, содержащей 5% глицерина оптимальная скорость замораживания составляет 1000°С/мин [12]. В настоящей работе для замораживания мы использовали контейнеры объемом 1 мл, которые при погружении в азот обеспечивают скорость охлаждения 180-300°С/мин до -25°С. Вероятно, что указанная скорость не превышает оптимальной скорости замораживания эритроцитов в среде, содержащей 5% глицерина и 6,85% сахарозы. Поэтому можно предположить, что использованные условия замораживания в нашей работе приводят к незначительной степени осмотического дисбаланса между внутриклеточной и внеклеточной средой. Следовательно, расчетными изменениями показателей гематокрита в ходе охлаждения, представленных на рис. 1, можно оценивать осмотическое поведение клеток и суспензии в экспериментальных условиях.

Таким образом, расчетные данные в определенной степени могут отражать осмотическое поведение клеток в суспензии с низким и высоким гематокритом при использованных в настоящей работе условиях замораживания. Включение 1,2-ПД в сахарозную среду приводит к замедлению концентрирования эритроцитов и торможению их дегидратации в ходе замораживания, что, возможно, является одной из причин, которая приводит к ослаблению постгипертонического стресса при отогреве и сохранению осмотических свойств отмытых от криоконсерванта клеток.

При замораживании эритроцитов с низким гематокритом образование льда во внеклеточной среде более вероятно, чем внутри клеток. В суспензии с высоким гематокритом относительный размер внеклеточного пространства уменьшается и он разделен на мелкие области, которые ведут себя как разделенные ячейки. В такой системе можно ожидать промерзания большего количества клеток по сравнению с низкогематокритной суспензией [13]. Клетки в жидких каналах между кристаллами льда подвергаются механическим сдвиговым воздействиям, что приводит к их деформированию и повреждению. Поэтому уменьшение отношения полного объема каналов к полному объему клеток может увеличивать степень их повреждения [11].

При медленном замораживании высокогематокритной суспензии эритроциты концентрируются в каналах льда, где раздавливаются и гемолизируются, в то же время при быстром замораживании клетки, в основном, хаотично распределены во льду. На основании этого авторы сделали заключение, что при быстром замораживании клеточных суспензий повреждение слабо связано с механической деформацией клеток образующимися кристаллами льда [12].

В суспензии с высоким гематокритом может происходить кластеризация клеток и уменьшение

площади поверхности мембран, через которую происходит диффузия воды, что препятствует выходу воды из клеток, повышает вероятность образования внутриклеточного льда и степень повреждения клеток [13]. При размораживании и плавлении льда могут создаваться условия, которые препятствуют равномерному разведению концентрированного раствора жидкой водой, и клетки в различных зонах будут подвергаться гипертоническому или гипотоническому воздействию [13]. При низком гематокрите большая часть льда образуется из внеклеточной воды, тогда как при высоком гематокрите значительная часть льда образуется из воды, которая была изначально внутриклеточной. При быстром размораживании суспензии с высокой концентрацией клеток, приращение повреждений происходит за счет постгипертонического воздействия на конечной стадии быстрого размораживания вследствие таяния внеклеточного льда, весомая доля которого была образована из внутриклеточной воды [9].

Таким образом, приращение степени повреждения эритроцитов при замораживании с высоким гематокритом, по сравнению с низким гематокритом, может определяться приростом всех основных повреждающих факторов.

Показано, что сахароза снижает осмотическую токсичность этиленгликоля в отношении яйцеклеток и эмбрионов [5]. Сочетание сахарозы с 2,3-бутандиолом значительно подавляет осмотическую токсичность данного проникающего криопротектора для эритроцитов [8]. Замораживание бластоцитов коровы в среде, содержащей 0,7 моль/л глицерина и 0,7 моль/л глицерина +100 ммоль/л сахарозы показало, что сохранность для первой среды составила 44%, тогда как для второй среды – 96% [14].

В среде, содержащей сахарозу, клетки при замораживании могут испытывать гипертонический стресс из-за значительной дегидратации [6]. Криозащитный эффект проникающих криопротекторов связан с замедлением концентрирования раствора и уменьшением степени дегидратации клеток [6]. Представленные данные литературы указывают на то, что включение в среду с сахарозой 1,2-ПД или глюкозы в невысокой концентрации и поступление их в клетки будет создавать противодействие чрезмерной дегидратации и, соответственно, ослаблять гипертонический стресс, который налагается вследствие концентрирования непроникающих компонентов среды.

Таким образом, полученные экспериментальные и расчетные результаты позволяют предположить, что криозащитная эффективность сахарозы ослабляется из-за вклада её концентрирования в гипертонический стресс на мембранах клеток при охлаждении. Включение в среду с сахарозой 1,2-ПД (или глюкозы) обеспечивает ослабление интенсивности её концентрирования и, соответственно, интенсивности концентрирования клеток. Проникновение 1,2-ПД или глюкозы в клетки приводит к

уменьшению степени их дегидратации и ослаблению действия гипертонического стресса при замораживании, что является условием для сохранения устойчивости клеточных мембран к постгипертоническому воздействию при отогреве. При этом часть эритроцитов, которая подвергалась меньшему действию повреждающих факторов при замораживании-отогреве, сохраняет устойчивость к осмотическим нагрузкам при разведении размороженной суспензии и отмывании клеток изотоническим раствором NaCl. Отмытые после замораживания клетки сохраняют свои осмотические свойства.

Выводы.

1. В цикле замораживания-отогрева суспензии эритроцитов отмечается большая степень повреждения в образцах с высоким (40%) по сравнению с низким (0,8%) гематокритом в среде с сахарозой. Это различие устраняется при включении в среду 1,2-ПД или глюкозы, но не декстрана.

2. В эритроцитах, отмытых после замораживания в среде с сахарозой и декстраном, повышается поток ионов H^+ и нарушается барьерная функция мембран для глутатиона, тогда как замораживание в среде с сахарозой и

1,2-ПД или с сахарозой и глюкозой приводит к незначительным изменениям указанных осмотических свойств.

3. Расчетные результаты при снижении температуры до $-25^{\circ}C$ показали, что включение в среду замораживания с сахарозой 1,2-ПД приводит к ослаблению интенсивности роста гематокрита и увеличению разницы в уровне роста гематокрита между образцами с низким (0,8%) и высоким (40%) гематокритом.

Перспективы дальнейших исследований. В следующей работе планируется исследовать влияние сочетания глицерина и сахарозы на постгипертонический стресс при замораживании эритроцитов с различным гематокритом.

Список литературы

1. Аграненко В.А. Замороженная кровь и ее клиническое применение / В.А. Аграненко, Л.И. Федорова. – М.: Медицина. 1983. – 96 с.
2. Ашмарин И.П. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов / И.П. Ашмарин, И.П. Васильев, В.А. Амбросов. – Л.: Из-во Ленингр. Ун-та. 1975. – 76 с.
3. Белоус А.М. Криоконсерванты / А.М. Белоус, М.И. Шраго, Н.С. Пушкарь. – Киев: Наук. Думка. 1979. – 200 с.
4. Рамазанов В.В. Ингибиторная эффективность блокаторов анионного канала в средах с полимерными криопротекторами / В.В. Рамазанов, Е.Л. Воловельская, В.А. Коптелов, В.А. Бондаренко // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Т.3(89). – Вип. 3. – С. 101–106.
5. Bagis H. Vitrification of pronuclear-stage mouse embryos on solid surface (SSV) versus in cryotube: comparison of the effect of equilibration time and different sugars in the vitrification solution / H. Bagis, H. Sagirkaya, H.O. Mercan, A. Dinnyus // Mol. Reprod. Dev. – 2004. – Vol. 67, № 2. – P. 186–192.
6. Bakhach J. The cryopreservation of composite tissues. Principles and recent advancement on cryopreservation of different type of tissues / J. Bakhach // Organogenesis. – 2009. – Vol. 5, № 3. – P. 119–126.
7. Beutler E. Red cell metabolism. A manual of biochemical methods. – New York: Grune&Stratton, 1975. – 160 p.
8. Boutron P. Reduction in toxicity for red blood cells in buffered solutions containing high concentrations of 2,3-butanediol by trehalose, sucrose, sorbitol, or mannitol / P. Boutron, J.F. Peyridieu // Cryobiology. – 1994. – Vol. 31, № 4. – P. 367–373.
9. Levin R.L. The limiting effects of heat and mass transfer on the osmotic behavior of cells during freezing and thawing / R.L. Levin // Cryobiology. – 1982. – Vol. 19, № 6. – P. 669.
10. Mazur P. Influence of cell concentration on the contribution of unfrozen fraction and salt concentration to the survival of slowly frozen human erythrocytes / P. Mazur, K.W. Cole // Cryobiology. – 1985. – Vol. 22, № 6. – P. 509–536.
11. Mazur P. Roles of unfrozen fraction, salt concentration, and changes in cell volume in the survival of frozen human erythrocytes / P. Mazur, K.W. Cole // Cryobiology. – 1989. – Vol. 26, № 1. – P. 1–29.
12. Nei T. Mechanism of freezing injury to erythrocytes: effect of initial cell concentration on the post-thaw hemolysis / T. Nei // Cryobiology. – 1981. – Vol. 18, № 3. – P. 229–237.
13. Pegg D.E. The effect of cell concentration on the recovery of human erythrocytes after freezing and thawing in the presence of glycerol / D.E. Pegg // Cryobiology. – 1981. – Vol. 18, № 3. – P. 221–228.
14. Tominaga K. Conventional freezing of in vitro-produced and biopsied bovine blastocysts in the presence of a low concentration of glycerol and sucrose / K. Tominaga, F. Iwaki, S. Hochi // J Reprod Dev. – 2007. – Vol. 53, № 2. – P. 443–447.
15. Valeri C.R. In vivo survival of apheresis RBCs, frozen with 40-percent (wt/vol) glycerol, deglycerolized in the ACP 215, and stored at 4 degrees C in AS-3 for up to 21 days / C.R. Valeri, G. Ragno, L. Pivacek, E.M. O'Neill // Transfusion. – 2001. – Vol. 41, № 7. – P. 928–932.
16. Woolgar A. E. Some combined effects of hypertonic solutions and changes in temperature on post-hypertonic haemolysis of human red blood cells / A.E. Woolgar, C.J. Morris // Cryobiology. – 1973. – Vol. 10. – P. 82–86.

УДК 57.043:577.352.4:547.42/43.

ПРОЯВ ТА ПОСЛАБЛЕННЯ ПОСТГІПЕРТОНІЧНОГО СТРЕСУ ПРИ ЗАМОРОЖУВАННІ ЕРИТРОЦИТІВ Рамазанов В.В., Воловельська Е.Л., Коптелов В.О., Бондаренко В.А.

Резюме. Досліджували осмотичні властивості еритроцитів, які заморожували у середовищах із цукрозою та декстраном або цукрозою та 1,2-пропандіолом (1,2-ПД), а також із цукрозою і глюкозою. Встановлено, що заморожування клітин у середовищі із цукрозою та декстраном призводить до значного зростання струму іонів H^+ та втрати бар'єрної функції мембран, що до глутатіону. При заморожуванні еритроцитів у середовищі із цукрозою та 1,2-ПД або глюкозою, залишок клітин після відмивання криоконсерванту зберігає позначені осмотичні властивості. Результати, які розраховували показують, що включення 1,2-ПД у середовище заморожування із цукрозою призводить до послаблення інтенсивності зростання гематокриту. При цьому відзначалося зростання різниці, що до рівня зросту гематокриту між зразками з низьким (0,8%) та високим (40%) гематокритом. Результати, які були отримані, дозволяють припустити, що включення у середовище 1,2-ПД або глюкози призводить до проникнення їх у еритроцити, зменшення ступеню дегідратації клітин та послабленню дії гіпертонічного стресу, обумовленого концентруванням цукрози. Це забезпечує збереження стійкості клітин, що до дії постгіпертонічного стресу при відігріві та відмиванні криоконсерванту.

Ключові слова: криопротектори, постгіпертонічний стрес, еритроцити, осмотичні властивості.

УДК 57.043:577.352.4:547.42/43.

ПРОЯВЛЕНИЕ И ОСЛАБЛЕНИЕ ПОСТГИПЕРТОНИЧЕСКОГО СТРЕССА ПРИ ЗАМОРАЖИВАНИИ ЭРИТРОЦИТОВ

Рамазанов В.В., Воловельская Е.Л., Коптелов В.А., Бондаренко В.А.

Резюме. Исследовали осмотические свойства эритроцитов, замороженных в средах с сахарозой и декстраном или с сахарозой и 1,2-пропандиолом (1,2-ПД), а также с сахарозой и глюкозой. Установлено, что замораживание клеток в среде с сахарозой и декстраном приводит к значительному росту потока ионов H^+ и потере барьерной функции мембран для глутатиона. При замораживании эритроцитов в среде с сахарозой и 1,2-ПД или глюкозой, оставшиеся клетки после отмывания криоконсерванта сохраняют указанные осмотические свойства. Расчетные результаты показали, что включение 1,2-ПД в среду замораживания с сахарозой приводит к ослаблению интенсивности роста гематокрита. При этом отмечается увеличение разницы в уровне роста гематокрита между образцами с низким (0,8%) и высоким (40%) гематокритом. Полученные результаты позволяют предположить, что включение в среду 1,2-ПД или глюкозы приводит к проникновению их в эритроциты, уменьшению степени дегидратации клеток и ослаблению действия гипертонического стресса, обусловленного концентрированием сахарозы. Это обеспечивает сохранение устойчивости клеток к постгипертоническому воздействию при отогреве и при отмывании криоконсерванта.

Ключевые слова: криопротекторы, постгипертонический стресс, эритроциты, осмотические свойства.

UDC 57.043:577.352.4:547.42/43.

Manifestation And Weakening Of Posthypertonic Stress When Freezing Erythrocytes Ramazanov V.V., Volovelskaya E.L., Koptelov V.A., Bondarenko V.A.

Summary. Osmotic properties of erythrocytes frozen in the media either with sucrose and dextran or sucrose and 1,2-propanediol (1,2-PD) and glucose have been studied. It has been established that cell freezing in the medium with sucrose and dextran results in a significant growth of H^+ ion flow and the loss of barrier function of membranes for glutathione. When freezing in the medium with sucrose and 1,2-PD or glucose, the rest of cells after washing-out of cryopreservatives preserves the mentioned osmotic properties. The resulted calculations have shown that the inclusion of 1,2-PD into freezing medium with sucrose leads to the weakening of intensity in hematocrit growth. Herewith there is noted the rise in the difference of the growth rate of hematocrit between the samples with low (0.8%) and high (40%) hematocrit. The findings enable the supposition that the inclusion into the medium of 1,2-PD or glucose leads to their penetration into erythrocytes, lessening of the cell dehydration rate and weakening of the effect of hypertonic stress, stimulated with sucrose concentration. This provides the preservation of cell resistance to posthypertonic effect when thawing and washing-out of cryopreservative.

Key words: cryoprotectants, posthypertonic stress, erythrocytes, osmotic properties.

Стаття надійшла 14.03.2012 р.

Рецензент – проф. Міщенко І.В.