

Морфофункциональное состояние эритроцитов при длительном гипотермическом хранении в зависимости от pH и ионной силы

Н.В. РЕПИН, В.В. КИРОШКА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Morphofunctional State of Erythrocytes Under Long-Term Hypothermic Storage Depending on pH and Ion Strength

N.V. REPIN, V.V. KIROSHKA

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

Вопросы, связанные с механизмами повреждения биологических объектов в процессе гипотермического хранения (ГХ), до настоящего времени остаются дискуссионными.

В работе исследовали влияние pH и ионной силы среды на морфологическое состояние и устойчивость эритроцитов в условиях гипотермического хранения.

Эквилибрация эритроцитов в средах с различным значением pH выявила достаточно высокую сохранность их исходной формы при варьировании pH среды. Наиболее значительное изменение формы в течение первых 30 мин отмечено в неэлектролитных средах при pH 8,6, в которых наблюдалась интенсивная трансформация дискоцитов в эхиноциты. В процессе ГХ установлены более выраженные изменения формы клеток, обусловленные составом и pH среды экспозиции. При кислых значениях pH эритроциты трансформируются в гетерогенную популяцию дискоцитов и эхиноцитов вне зависимости от состава среды хранения, тогда как нейтральные значения pH вызывали трансформацию эритроцитов в гомогенную, эхиноцитарную популяцию. При щелочных значениях pH среды на 2-е сутки ГХ в неэлектролитных средах клетки интенсивно трансформируются в сфероэхиноциты, тогда как в электролитных средах образуется гетерогенная популяция дискоцитов и эхиноцитов.

На протяжении всего срока хранения (21 сутки) уровень гемолиза при pH 7,2 оставался минимальным по сравнению с кислыми и щелочными значениями pH в средах с высокой и низкой ионной силой. Различия в трансформации формы отражали степень устойчивости клеток. При анализе осмотической резистентности эритроцитов на начальном этапе ГХ (2–7 сутки) неожиданным оказался тот факт, что наиболее осмотически устойчивой является гомогенная популяция клеток, состоящая из эхиноцитарных форм.

Установлено, что вне зависимости от ионной силы среды при кислых значениях pH наблюдается минимальная осмотическая устойчивость. В процессе ГХ степень повреждения клеток в неэлектролитных средах была достоверно ниже по сравнению с электролитными. В средах, где отмечена трансформация эритроцитов в гомогенную состоящую из эхиноцитов популяцию, выявлен минимальный уровень гемолиза. Исследование состояния примембранного слоя эритроцитов в процессе ГХ показало, что между 10 и 14 сутками при некоторых условиях хранения происходит разрыхление, отслоение и потеря гликокаликса. Трансформация формы клеток при хранении сопровождалась изменением ультраструктуры мембран и примембранного слоя.

The questions about the damage mechanisms of biological objects under hypothermic storage (HS) have been remained disputable.

In the research we have studied the pH and medium ion strength effects on morphological state and erythrocyte resistance under hypothermic storage.

Erythrocyte equilibration in media with different pH values revealed quite a high integrity of their initial shape when varying medium pH. The most significant change in shape within first 30 min was noted in non-electrolyte media at pH 8.6, where an intensive discocyte transformation into echinocytes was observed. More manifested changes in cell shape, stipulated by composition and exposure medium pH have been established during HS. Under acid pH values the erythrocytes are transformed into heterogeneous population of discocytes and echinocytes independently on the storage medium composition, meanwhile the neutral pH values caused erythrocyte transformation into a homogenous, echinocyte population. Under alkaline values of medium pH to the 2nd day of HS in non-electrolyte media the cells are intensively transformed into sphere-echinocytes, mean-while in electrolyte ones a heterogeneous population of discocytes and echinocytes is formed.

Within the whole storage term (21 days) the hemolysis level at pH 7.2 has remained minimum, compared to the acid and alkaline pH values in the media with high and low ion strengths. Differences in shape transformation reflected the cell resistance degree. When analyzing the erythrocyte osmotic resistance at the initial HS stage (2–7 days), the fact that the homogenous cell population, consisting of echinocyte forms, is the most osmotically resistant, occurred to be unsuspected.

It was established, that independently on the medium ion strength under acid pH values, there was observed a minimum osmotic resistance. During HS the degree of cell damage in non-electrolyte media was statistically and significantly lower, compared to the electrolyte ones. In the media, where the erythrocyte transformation into homogenous population, consisting of echinocytes, was observed, a minimum hemolysis level was revealed. The research of the state of near membrane erythrocyte layer during HS has demonstrated that between 10 and 14 days under some storage conditions the loosening, exfoliation and loss of glyco-calyx occurs. Cell shape transformation under storage was accompanied by a change in membrane ultrastructure and near membrane layer.