

Осмотическая резистентность эритроцитов барана в условиях гипотермического хранения и воздействия озона

К.Н. Головина

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Osmotic Resistance of Ovine Erythrocytes Under Hypothermic Storage and Ozone Exposure

K.N. Golovina

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

В практике лабораторного медицинского анализа востребованы методы, в которых используются эритроциты барана как визуальной метки Т-лимфоцитов человека. Однако существующие консерванты-стабилизаторы не обеспечивают хранения эритроцитов больше 2 месяцев. Таким образом, существует практический интерес к поиску и усовершенствованию среды для длительного гипотермического хранения эритроцитов барана.

Целью работы было оценить по изменению коэффициента осмотической хрупкости сохранность клеток в различных средах в течение 8 недель при температуре 2...4°C. Сравнивали следующие среды: 1 – 0,9%-й раствор хлорида натрия; 2 – 7%-й раствор сахарозы; 3 – раствор Олсвера (глюкоза 20,5 г/л, цитрат натрия 8 г/л, лимонная кислота 0,552 г/л, хлорид натрия 4,2 г/л); 4 – 5%-й раствор маннита. Степень гемолиза оценивали спектрофотометрическим методом по количеству гемоглобина, вышедшего из лизированных клеток. Также оценивали влияние на сохранность эритроцитов барана инкубации в растворе с концентрацией озона 0,16 мг/л, эффективность которой была ранее показана на человеческих эритроцитах [И.А. Белых и др. 2007].

В результате проведенных экспериментов были получены данные, согласно которым указанные среды можно расположить в порядке убывания по степени гемолиза клеток после хранения: 1 > 3 > 4 > 2, что позволяет говорить о лучшей сохранности эритроцитов в 7%-м растворе сахарозы, по сравнению с другими изотоническими средами. После инкубации хранившихся клеток в растворах с озоном на заключительном этапе хранения (8 недель) было показано существенное снижение коэффициента гемолиза клеток для каждой среды, %: 1 – на 1,2; 2 – 18,0; 3 – 14,6; 4 – 8,6. Наблюдаемый эффект, по нашему мнению, может быть обусловлен модифицирующим влиянием озона на аквапорины эритроцитов, показанным ранее [B.L. Smith *et al.*, 1994; V. Travagli *et al.*, 2007]. В результате такой обработки создаются условия для выравнивания осмотических градиентов между внутри- и внеклеточной средой, что приводит к повышению осмотической устойчивости. Обнаруженный эффект может быть использован в дальнейшем при гипотермическом хранении эритроцитов барана для клинических и научных целей.

Medical laboratory tests involve the methods with ovine erythrocytes as a visual label for human T cells. However, the existing stabilizing solutions do not provide storage of erythrocytes longer than 2 months. Thus there is a practical need in research and improvement of a medium for long-term hypothermic storage of ovine erythrocytes.

The research aim was to evaluate cell survival during storage in different media for 8 weeks at 2...4°C using the changes in osmotic fragility coefficient as the index. The following media were compared: 1) 0.9% sodium chloride; 2) 7% sucrose; 3) Alsever's solution (glucose 20.5 g/l; sodium citrate 8 g/l; citric acid 0.552 g/l; sodium chloride 4.2 g/l); 4) 5% mannitol. The hemolysis degree was assessed spectrophotometrically by the amount of hemoglobin released from lysed cells. There was evaluated the effect of treatment with low concentration of ozone (0.16 mg/l) on ovine sheep erythrocyte integrity, that was previously shown as an effective for human erythrocytes [I.A. Belykh *et al.*, 2007].

The obtained data of experiments allowed to arrange the used media by observed hemolysis in such descending order: 1 > 3 > 4 > 2, *i. e.* higher preservation of erythrocytes was found in 7% sucrose solution if compared with other isotonic media. Incubation of the cells in low concentration ozone solution in 8 weeks of storage resulted in a significant reduction of cell hemolysis index for each media, as follows: 1) 1.2%, 2) 18.0%, 3) 14.6% 4) 8.6%. The observed effect may be presumably stipulated by modifying effect of ozone on erythrocyte aquaporins, reported previously [B.L. Smith *et al.*, 1994; V. Travagli *et al.*, 2007]. Such a treatment provided the conditions for balancing the osmotic gradients between intra- and extracellular media, resulting in increase of osmotic resistance. The observed effect may be applied in the future for practical use in hypothermic storage of ovine erythrocytes for clinical and research purposes.

