Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси

Белорусский государственный университет

Белорусское общественное объединение

фотобиологов и биофизиков

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

"МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, МЕМБРАННЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БИОСИСТЕМ"

VII СЪЕЗД БООФиБ

21-23 июня 2006 г., Минск, Беларусь

СБОРНИК СТАТЕЙ

ТОМ I

Минск

ИООО «Право и экономика»

2006

СВЯЗЬ ЯВЛЕНИЯ ХОЛОДОВОГО ШОКА СО СТРУКТУРНЫМИ ПЕРХОДАМИ В МЕМБРАНЕ ЭРИТРОЦИТОВ СОБАКИ

С.С. Ершов, Н.В. Орлова, Н.М. Шпакова, Л.В. Цымбал

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина

Холодовой шок (ХШ), т.е. повреждение клеток при совместном действии гиперосмотического фактора и резкого перепада температур, достаточно хорошо изучен для эритроцитов человека. Подобное явление мы обнаружили и у эритроцитов собаки. Исходя из того, что сдвиг температуры является одним из важнейших факторов ХШ, представляло интерес изучить вклад температуры инкубационной среды в процесс криогемолиза эритроцитов собаки.

Для осуществления ХШ эритроциты инкубировали в среде, содержащей 1,2 М NaCl. Изучение влияния температуры на развитие ХШ эритроцитов проводили в 2-х вариантах: варьировали температуру I-го этапа ХШ в диапазоне от 5 до 37°С, при постоянной температуре II-го этапа (0°С) либо изменяли температуру II-го этапа (5–37°С) при неизменном температурном режиме I-го этапа (37°С). Выход гемоглобина определяли спектрофотометрически. Оценку состояния эритроцитарных мембран при изменении температуры осуществляли методом ЭПР спектрометрии с использованием 16-доксилстеариновой кислоты (16-ДС, 10^{-4} М).

Как видно из рис.1, повреждение клеток в среде, содержащей 1,2 М NaCl, начинает развиваться в том случае, когда охлаждению до 0°С предшествует инкубирование клеток при температурах, превышающих 10°С. При этом рост начальной температуры инкубации сопровождается увеличением гемолиза эритроцитов при их последующем охлаждении. Полученная температурная

характеризуется двумя перегибами (в области 15 и 30°С), разделяющими три участка с практически линейными зависимостями гемолиза эритроцитов от температуры.

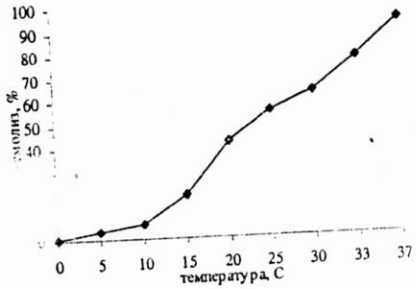

Рис.1 Зависимость уровня гемолиза эритроцитов от температуры инкубации клеток на этапе, предшествующем их охлаждению до 0°С (среда инкубации 1,2 M NaCl).

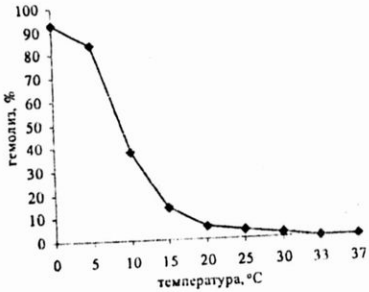

Рис.2 Уровень гемолиза эритроцитов собаки, проинкубированных в среде при температуре 37° С и охлажденных до различных температур (среда инкубации 1,2 M NaCl).

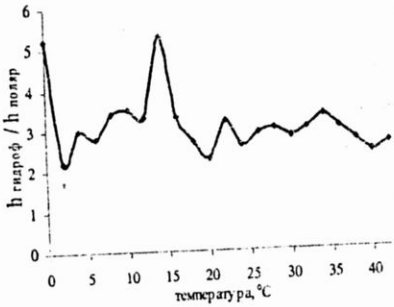

Рис.3 Температурная зависимость параметра распределения зонда 16-ДС в мембранах эритроцитов собаки.

О значении различных температурных интервалов в развитии ХШ эритроцитов свидетельствуют данные рис.2, которые были получены при

варьировании температуры II-ого этапа эксперимента при фиксированной температуре I-ого этапа (37°С). Эритроциты собаки проявляют чувствительность к гипертоническому воздействию при охлаждении от 37 до 15°С, которая усиливается при сдвиге температуры до более низких значений (в диапазоне 0-10°С). Гемолиз эритроцитов при охлаждении от 37 до температур, превышающих 15°С, практически не развивается. Таким образом, можно говорить о температурной точке в интервале температур 15 – 20°С, прохождение через которую (во время охлаждения эритроцитов от 37°С до температуры ниже 15°С) приводит к развитию ХШ.

Состояние эритроцитарной мембраны при изменении температуры в диапазоне 0-40°С изучали с помощью гидрофобного зонда 16-ДС. Спектр ЭПР зонда 16-ДС в суспензии клеток свидетельствует о частичной растворимости радикалов в воде. Поэтому особенности температурной зависимости параметров подвижности зонда могут быть обусловлены влиянием «внеклеточного» сигнала на суммарный спектр. Для характеристики динамической структуры мембраны использовали параметр распределения молекул 16-ДС между мембраной и внеклеточной средой, который оценивали по отношению интенсивностей низкопольных сигналов зонда в мембранах и среде. Температурная зависимость параметра распределения зонда 16-ДС в суспензии эритроцитов демонстрирует резкие изменения в интервалах температур 2-4°С и 12-16°С (рис.3), что свидетельствует о термоиндуцированных структурных переходах в эритроцитарных мембранах вблизи указанных температур.

Наблюдаемый переход в мембранах эритроцитов собаки (в интервале температур 12-16°С) согласуется с показанными выше резкими изменениями устойчивости клеток к ХШ.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что появление чувствительности эритроцитов собаки к ХШ обусловлено структурным переходом в области 12-16°С.