

I Міжнародна науково-практична інтернет-конференція

ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

25 березня 2021 р.
м. Харків, Україна

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

PROBLEMS AND ACHIEVEMENTS OF MODERN BIOTECHNOLOGY

Матеріали
І міжнародної науково-практичної
Інтернет-конференції

Materials
of the I International Scientific and Practical
Internet Conference

ХАРКІВ
KHARKIV
2021

Изменения активности Ca^{2+}-АТФазы и механической устойчивости эритроцитов при криоконсервировании с полиэтиленгликолем

Землянских Н.Г., Мигунова Р.К., Бабийчук Л.А.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков, Украина

nzemliansky@gmail.com

Донорская кровь широко используется в медицине для поддержания функций кровоснабжения у пациентов с разными патологиями. Возможность хранения биологических материалов при ультранизких температурах позволяет создавать значительные запасы крови. Однако экстремальные факторы, действующие на клетки в ходе их замораживания-отогрева, создают риск повреждения субклеточных структур. Поэтому при разработке методов криоконсервирования эритроцитов человека используют криопротекторные агенты (КПА), защищающие клетки от стрессовых факторов. Эндоцеллюлярный (проникающий через клеточную мембрану) КПА глицерин обеспечивает хорошую выживаемость эритроцитов после размораживания, но перед применением криоконсервированных доз крови данный КПА необходимо удалять из клеток, что требует значительных затрат времени и материальных ресурсов. В связи с этим активно ведется поиск нетоксичных экзоцеллюлярных КПА, которые позволяют использовать размороженную кровь без предварительного удаления КПА. Одним из перспективных веществ в качестве экзоцеллюлярного КПА может быть полиэтиленгликоль с молекулярной массой 1500 (ПЭГ). Для повышения жизнеспособности эритроцитов, криоконсервированных с ПЭГ, и возможности корректирования негативных процессов, влияющих на стабильность клеток в физиологических условиях, важно исследовать их структурно-функциональные свойства.

Цель работы заключалась в изучении изменений механической устойчивости клеток и активности Ca^{2+}-АТФазы под влияниям замораживания эритроцитов в присутствии ПЭГ до температуры жидкого азота (−196^{o}C) и последующего отогрева до физиологической температуры (+37^{o}C).

Добавление раствора ПЭГ к суспензии эритроцитов вызывает осмотическое сжатие клеток, сопровождаемое повышением концентрации ионов, в том числе Ca^{2+}, который выполняет функции вторичного мессенджера. Учитывая, что в эритроцитах человека Ca^{2+}-АТФаза является единственной системой активного транспорта Ca^{2+}, которая восстанавливает его уровень в цитозоле после повышения, в стрессовых условиях для нормального функционирования клеток важно сохранение высокой активности данного регулятора. Однако, в эритроцитах после их замораживания-отогрева под защитой ПЭГ было выявлено снижение активности Ca^{2+}-АТФазы почти в 3 раза по сравнению с контролем. Это предполагает, что криоконсервирование эритроцитов с ПЭГ может повлечь за собой череду Ca^{2+}-зависимых биохимических процессов, влияющих на стабильность клеток в русле крови. В частности, возможно нарушение механических свойств мембран эритроцитов после их замораживания-отогрева с ПЭГ.

Оценка гемолитических повреждений эритроцитов, криоконсервированных с ПЭГ, в условиях механического стресса продемонстрировала снижение устойчивости клеток относительно контроля. Это может указывать на сублетальные повреждения мембран в процессе замораживания-отогрева, а также на негативные последствия биохимических реакций, активированных повышением концентрации внутриклеточного Ca^{2+}. К числу Ca^{2+}-зависимых реакций, влияющих на механические свойства мембраны эритроцитов, можно отнести нарушение взаимодействий между белками цитоскелетной сети и интегральными компонентами, а также нарушение структуры липидного бислоя, обусловленное потерей асимметричного распределения липидов в мембране.

Таким образом, изменения, выявленные в криоконсервированных с ПЭГ эритроцитах, позволяют предположить, что включение в состав консервирующей среды фармацевтически приемлемых ингибиторов роста Ca^{2+} в клетках может способствовать повышению стабильности и выживаемости клеток в стрессовых условиях.