ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ШЕРЕМЕТ ЛІЛІЯ ВІТАЛІЇВНА

ЗМІНИ БАР'ЄРНОЇ ФУНКЦІЇ ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ ЕРИТРОЦИТІВ БІЛИХ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПРИ ДІЇ ГІПЕРТОНІЧНОГО ФАКТОРА СЕРЕДОВИЩА

03.00.13 — Фізіологія людини та тварин

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

1994

ЛННБ України ім.В.Стефаника
00778649 (+)

ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ШЕРЕМЕТ ЛІЛІЯ ВІТАЛІЇВНА

ЗМІНИ БАР"ЄРНОЇ ФУНКЦІЇ ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ ЕРИТРОЦИТІВ БІЛИХ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПРИ ДІЇ ГІПЕРТОНІЧНОГО ФАКТОРА СЕРЕДОВИЩА

03.00.13 - Фізіологія людини та тварин

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Харків - 1994

Дисертація є рукопис

Робота виконана на кафедрі фізіології людини та тварин Харківського державного університету

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор В.А.Бондаренко

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор В.Й.Луговий (Інститут проблем кріобіології і кріомедицини АН України, м. Харків)

кандидат біологічних наук, професор С.М.Корсун (Харківський державний інститут фізичної культури)

Провідна установа: Український НДІ терапії АМН України, м. Харків

Захист відбудеться "17" червня 1994 р. о "17[30]" годині на засіданні спеціалізованої ради К 053.06.07 Харківського державного університету (310077, м. Харків, майд. Свободи, 4, аудиторія 3-15)

З дисертацією можна ознайомитися в Центральній науковій бібліотеці Харківського державного університету.

Автореферат розіслано "17" травня 1994 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради кандидат біологічних наук А.Б.Некрасова

ЛНБ ім. В. Стефаника АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Відомо, що вікові зміни здатні викликати прогресуюче зниження ефективності систем, які підтримують гомеостаз у організмі в процесі онтогенезу, спостерігаються на різних рівнях організації організму.

Особливості кількісного та якісного складу плазматичної мембрани, а саме, значні відмінності фізико-хімічних властивостей і функцій, які пов"язані з ліпідами та білками, надзвичайно висока концентрація білків, включених у мембрану, природа взаємодій між компонентами, дозволяють віднести мембрану на думку ряда авторів, до групи так називаних "організаційно-хінцевих систем" (Войтенко В.І., 1981), для яких характерно зростання дестабілізації в залежності від терміну функціонування-гомеокінез.

Тому вивчення бар"єрної функції плазматичної мембрани клітин у онтогенезі організму експериментальних тварин має значний інтерес, т.к. у цьому випадку з"являється можливість виявити фактори здатні викликати прогресуюче зниження ефективності систем, які підтримують клітинний гомеостаз у процесі онтогенезу.

Віковий статус клітин може проявлятися у зміні їх осмотичної чутливості і визначатися, зокрема, по збереженню бар"єрної функції мембрани при переносі клітин у нефізіологічні (по осмолярності, pH та in_2) умови середовища. Такий додатковий альтеруючий вплив здатен виявити вікові відмінності структурно-функціонального стану клітин, які в нормі не проявляються. Ці особливості можуть відображувати ступінь структурної пластичності по відношенню до широкого діапазону умов, в котрих може знаходитись клітина. Використання різних варіантів початкової модифікації структури, у тому числі і тих, що контролюють осмотичну поведінку клітин, дозволяє виявити більш виражені особливості структурної пластичності клітин, які визначаються віком.

Приймаючи це до уваги метою нашої роботи було вивчення вікових особливостей чутливості еритроцитів 1-і 12- місячних щурів до змін осмотичних параметрів при переносі клітин до гіпертонічних розчинів у нативному стані, а також при хімічній модифікації (гемінон і хлорпромазином) та після температурної денатурації білків (+49^{0}C).

Крім цього проводилось вивчення інших показників еритроцитів та їх зв'язку зі змінами чутливості клітин до дії гіпертонічного шоку, а також вивчались особливості функцій рецепторного апарату еритроцитів 1- та 12-місячних тварин.

Задачі дослідження. Згідно з поставленою метою роботи були заплановані слідуючі експериментальні задачі:

1. Дослідити чутливість еритроцитів щурів різного віку до експонування у гіпертонічному сахарозному середовищі з різною концентрацією сахарози в залежності від тривалості експонування.

2. Дослідити вплив умов інкубації у неелектролітному середовищі в залежності від концентрації сахарози та тривалості експозиції на чутливість еритроцитів щурів різного віку до гіпертонічного шоку в 4,0 моль/л $NaCl$.

3. Вивчити вплив температурної (+49°С) та хімічної модифікації (хлорпромазином та гемінем) на чутливість еритроцитів щурів різного віку до дії гіпертонічного фактора середовища.

4. Вивчити динаміку зміни рівня АТФ в еритроцитах 1- та 12-місячних щурів в присутності йодоацетаміда, а також вплив внутрішньоклітинного рівня АТФ на стійкість клітин тварин різного віку до дії гіпертонічного та температурного фактора середовища.

5. Вивчити динаміку агглютинації еритроцитів тварин різного віку під впливом конканаваліну А.

Наукова новина. Вперше показано, що в гіпертонічному неелектролітному середовищі еритроцити білих щурів набувають чутливості до гіпертонічного шоку при переносі у 4,0 моль/л $NaCl$, що проявляється у гемолізі клітин, рівень якого залежить від віку тварин, концентрації неелектроліта та тривалості експонування.

Виявлені вікові особливості зміни осмотичної стійкості еритроцитів 1- та 12- місячних щурів внаслідок температурної/хімічної модифікації стану цитоскелета клітин та його взаємодій з компонентами мембрани. Показано, що характер і ступінь впливу хімічних модифікаторів мембрани залежать від концентрації неелектроліта у середовищі та тривалості експозиції клітин у ньому.

Встановлено, що стійкість нативних та модифікованих еритроцитів білих щурів старого віку до дії гіпертонічного фактора середовища вища порівняно з клітинами 1-місячних тварин.

Показано, що еритроцити 1-місячних щурів характеризуються

більш значнов швидкостю виснаження внутрішньоклітинного рівня АТФ в присутності йодоацетаміду порівняно з клітинами тварин старшої вікової групи.

Виявлені вікові особливості стану рецепторного апарату еритроцитів 1- та 12-місячних тварин, про що свідчить різна швидкість аглютинації клітин в присутності конканавалін А.

Теоретичне та практичне значення. Результати роботи дають можливість використовувати осмотичну чутливість еритроцитів в певних умовах як маркер вікового статусу експериментальних тварин. Стійкість еритроцитів 1-місячних тварин до гіпертонічних умов в неелектролітному середовищі та розчині електроліта нижча, ніж клітин щурів старшого віку.

Отримані дані показують, що вікові особливості бар"єрної функції цитоплазматичної мембрани еритроцитів пов"язані зі змінами в процесі онтогенезу структурно-функціонального стану цитоскелета та його взаємодій з компонентами ліпідного шару мембрани. Віковий статус організму впливає на функціонування систем енергетичного обміну еритроцитів, а також на стан рецепторного апарату клітин, олігомерних вуглеводних ланцюгів білка смуги 3.

Практичне значення роботи полягає у тому, що одержані результати можуть бути використані для розробки нових підходів у вивченні еритроцитів як показників вікових змін організму людини у нормі та при патологічних станах.

Основні положення, які виносяться на захист.

1. В гіпертонічних розчинах сахарози еритроцити щурів не тільки набувають чутливості до гіперосмотичного шоку в 4,0 моль/л NaCl, але гемолізують на етапі початкової інкубації. Рівень гемолізу визначається умовами початкового експонування клітин у неелектролітному середовищі (концентрацією сахарози і тривалості інкубації) та віком тварин.

2. Хімічна (хлорпромазином і гепіном) та температурна (+49°С) модифікація стану плазматичної мембрани і білкового скелета еритроцитів проявляється у зміні чутливості до дії гіпертонічного фактора середовища. Конкретний характер впливу залежить від складу, тонічності середовища та віку тварин.

Апробація роботи. Матеріали доповідались на конференції молодих вчених ХДУ (Харків, 1991, 1994), на конференції молодих вчених Харківського медичного інституту (Харків, 1992), на VI

Українському біохімічному з"їзді (Київ, 1992).

Публікації. По матеріалам дисертації опубліковано 3 роботи, з яких 2 журнальні статті та 1 робота в тезах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається із вступу, обліку літератури, опису матеріалів та методів, 6 розділів власних досліджень та їх обговорення, заключення, висновків, списку літератури, який включає 190 робіт закордонних та 28 вітчизняних авторів. Робота викладена на 130 сторінках машинописного тексту, містить 37 малюнків.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі були використані еритроцити 1- та 12-місячних самців білих щурів, лінії *Wistar*.

Еритроцити експонували в гіпертонічних розчинах, які містили різні концентрації сахарози (0,27 - 1,0 моль/л) на протязі певного часу (2,10,30,60 хвилин). Дані умови експозиції в неелектролітних середовищах зумовлювали початкову модифікацію клітин, котрі потім переносили в 4,0 моль/л $NaCl$, за допомогою чого моделювався гіперосмотичний шок (Поздняков В.В., 1989).

Для модифікації взаємодії цитоскелета з ліпідним шаром мембрани еритроцити обробляли геміном (2×10^{-5} моль/л) або хлорпромазином (7×10^{-5} моль/л). Температурна денатурація білка смуги 2,1 здійснювалась при +49°С.

Визначення еритроцитів по АТФ в присутності йодоацетаміда проводили згідно (*Ferrell J. E.*, 1982). Вміст внутрішньоклітинного АТФ визначали гексо-кіназним методом з невеликими модифікаціями (*Beutler E.*, 1975).

Аглютінація еритроцитів здійснювалась обробкою клітин конканавалієм А (67,5 та 135 мкг/мл).

Статистичну обробку експериментальних даних проводили по Ст"юденту-Фішеру.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Стійкість еритроцитів білих щурів різного віку до гіпертонічного неелектролітного середовища та гіперосмотичного шоку

Стійкість еритроцитів до гіперосмотичного шоку в 1,0-4,0 мо-

лярних розчинах NaCl залежить від структурно-функціонального стану цитоскелета та його взаємодії з компонентами мембрани (Бондаренко В.А., 1989). При зміні осмотичних параметрів середовища стан цитоскелета і його взаємодія з компонентами мембрани залежать від ступеня дегідратації клітини, котра задається початковим рівнем осмолярності як у присутності електролітів, так і неелектролітів (Поздняков В.Д., 1989), а також тривалістю експонування клітин у гіпертонічних розчинах неелектроліта (Пєсіна І.І., 1994).

На етапі початкової інкубації в гіпертонічних розчинах, які містять сахарозу, еритроцити білих щурів не тільки набувають чутливості до наступного переносу в 4,0 моль/л NaCl, але й гемолізують. Рівень гемолізу залежить від концентрації неелектроліта та тривалості експонування клітин. Еритроцити 1- та 12- місячних тварин характеризуються різницевою чутливістю до дії гіпертонічного фактора середовища в області критичних концентрацій сахарози, між якої визначаються часом інкубації клітин.

Вікові особливості стійкості еритроцитів обох вікових груп до зміни осмотичних умов у присутності неелектроліта (0,27 - 1,0 моль/л сахарози)проявляється тільки після певного часового інтервалу (від 10 до 60 хвилин), при цьому еритроцити одномісячних тварин відрізняє висока чутливість до гіпертонічного неелектролітного середовища, яка різко зростає при збільшенні тривалості експонування клітин. При тих же умовах тонічності середовища та часу інкубації осмотична чутливість еритроцитів 12-місячних щурів значно нижча.

Порівняння вікових особливостей чутливості нативних еритроцитів 1- та 12-місячних білих щурів до переносу в 4,0 моль/л NaCl можливе тільки після короткочасного експонування (на протязі 2 хвилин) в гіпертонічному сахарозному середовищі, так як в цих умовах гемолізує менш ніж 10% еритроцитів тварин обох вікових груп. Стійкість еритроцитів 1-місячних тварин до гіпертонічного шоку в 4,0 моль/л NaCl була достовірно нижча, ніж стійкість клітин 12-місячних щурів після експонування у гіпертонічних розчинах неелектроліта (0,8-1,0 моль/л сахарози).

Таким чином , еритроцити характеризуються неоднаковою чутливістю до експонування у гіпертонічних розчинах солі та неелектроліта. Таку особливість можна пов"язати з різним характером змін

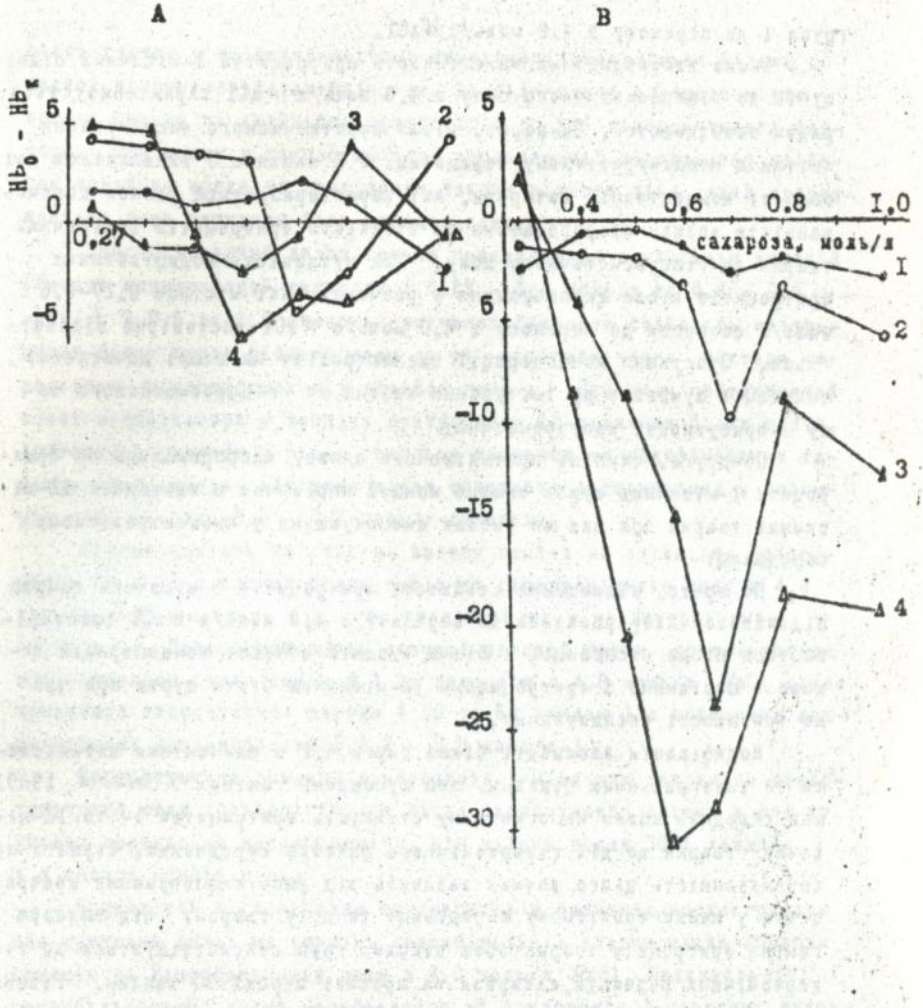
структурного стану цитоскелета та мембрани в умовах дегідратації. Той факт, що структурна стабільність цитоскелета контролюється слабкими зв"язками між його компонентами, для яких характерна висока чутливість до змін умов середовища (Hartt C., 1982) дозволяє прийти до висновку, що вікові розбіжності осмотичної стійкості еритроцитів контролюються неоднаковою структурою багаточисленних слабких зв"язків у мехах цитоскелета.

Вплив температурної та хімічної модифікації цитоскелета на чутливість еритроцитів білих щурів різного віку до дії гіпертонічного фактора в неелектролітному середовищі та розчині електроліта

Відомо, що температурна обробка еритроцитів щурів при +49°С зумовлює вибіркову денатурацію білка смуги 2.1 (анкіріну), який забезпечує взаємодію спектринових тетрамерів цитоскелета з білком смуги 3 (Салія Ц.Х., 1989). Ослаблення взаємозв"язку цитоскелета з інтегральними білками ліпідного шару знижує осмотичну стійкість еритроцитів білих щурів 1- та 12-місячного віку до дії гіпертонічного середовища у розчинах неелектроліта та 4,0 моль/л NaCl. Ступінь сенсибілізуючого впливу температурної модифікації структурного стану мембрани на чутливість клітин до пошкоджуючого фактора не залежить від концентрації неелектроліта у середовищі. Тривалість експонування також не має суттєвого впливу на зміну чутливості модифікованих клітин до гіпертонічних умов.

Зниження стабілізуючого впливу цитоскелета на ліпідний шар внаслідок температурної денатурації білка смуги 2.1 зумовлює різке підвищення чутливості еритроцитів тварин молодшої вікової групи до гіпертонічного середовища, що менш виражено у зміні осмотичної стійкості модифікованих еритроцитів 12-місячних щурів порівняно з нативними клітинами.

Обробка еритроцитів хлорпромазином, інгібітором кальмодуліна (Takahashi T., Nebez Y.D., 1983), змінює чутливість до гіпертонічного середовища неелектроліта тільки клітин 1-місячних тварин (мал. 1 а,б). При цьому хлорпромазин проявляє виключно протектумний ефект у всій дослідженій області концентрацій сахарози, ступінь якого зростає при збільшенні тривалості експонування клітин. Хлорпромазин знижує чутливість еритроцитів тварин даної вікової



Мал. 1. Вплив хлорпромазина на чутливість еритроцитів 1- (А) та 12- (В) місячних тварин до гіпертонічних розчинів сахарози.

1, 2, 3, 4 - час інкубації 2, 10, 30, 60 хвилин, відповідно.

групи і до переносу в 4,0 моль/л NaCl.

Вплив хлорпромазина на стійкість еритроцитів 1-місячних білих щурів до гіперосмотичного шоку в 4,0 моль/л NaCl характеризується рядом особливостей. По-перше, після короткочасного експонування клітин в неелектролітному середовищі (2 хвилини) виявляється дві області концентрацій сахарози, які характеризуються різною спрямованністю впливу хлорпромазина на стійкість еритроцитів 1-місячних тварин до гіперосмотичного шоку. Так чутливість модифікованих еритроцитів після експонування у розчинах, які містили 0,27-0,6 моль/л сахарози до переносу в 4,0 моль/л NaCl достовірно підвищується. Зростання концентрації неелектроліту на етапі початкової інкубації зумовлює протектування клітин до гіперосмотичного шоку в присутності хлорпромазина.

По-друге, ступінь протектуючого впливу хлорпромазина на еритроцити 1-місячних щурів значно менший порівняно з клітинами 12-місячних тварин при цих же умовах експонування у неелектролітному середовищі.

По-третє, підвищення стійкості еритроцитів 1-місячних тварин під впливом хлорпромазина до переносу в 4,0 моль/л NaCl спостерігається після експозиції в більш вузькій області концентрацій сахарози порівняно з еритроцитами 12-місячних білих щурів при цій же тривалості експонування.

Модифікація взаємодії білка смуги 4.1 з елементами цитоскелета та інтегральними білками, яка зумовлена геміном (Sota A., 1989), має складний вплив на осмотичну стійкість еритроцитів 1- та 12-місячних тварин до дії гіпертонічного фактора середовища. Ступінь та спрямованність цього впливу залежить від умов експонування еритроцитів у неелектролітному середовищі та віку тварин. Під впливом гемінa еритроцити тварин обох вікових груп сенсибілізуються до гіпертонічних розчинів сахарози на протязі перших 30 хвилин. Рівень гемолізу модифікованих еритроцитів 12-місячних щурів незначно підвищується порівняно з нативними клітинами. При цьому чітко виражена залежність ступеня сенсибілізації клітин від концентрації неелектроліта у середовищі та тривалості експонування еритроцитів у межах вказаного часу не проявляється. Чутливість оброблених гемінoм еритроцитів 1-місячних тварин до гіпертонічного сахарозного середовища вища, ніж клітин старшої вікової групи.

Після тривалого експонування (60 хвилин) модифікованих ге-

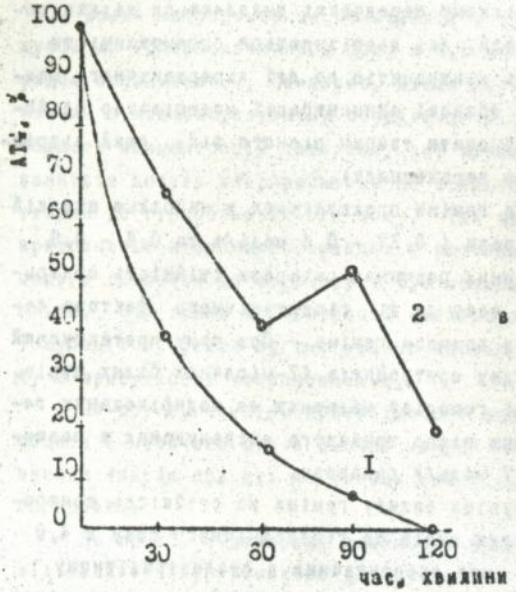
міном клітин у неелектролітному середовищі виявляється кілька областей концентрацій сахарози, які відрізняються спрямованністю впливу геміна на стійкість еритроцитів до дії гіпертонічного фактора. При цьому у похилій області концентрації модифікатор здійснює подібний ефект на еритроцити тварин різного віку, який відрізняється лише ступінем його вираженності.

Сенсибілізуючий вплив геміна проявляється в найбільш широкій області концентрацій сахарози (0,27 - 0,4 моль/л та 0,8 - 0,9 моль/л). В 0,6 та 1,0-молярних розчинах сахарози стійкість еритроцитів білих щурів різного віку до дії гіпертонічного фактора середовища підвищується під впливом геміна. При чому протектувний ефект модифікатора у випадку еритроцитів 12-місячних білих щурів. Достовірна різниця у рівні гемолізу нативних та модифікованих геміном еритроцитів відсутня після тривалого експонування в розчинах, які містять 0,5 - 0,7 моль/л сахарози.

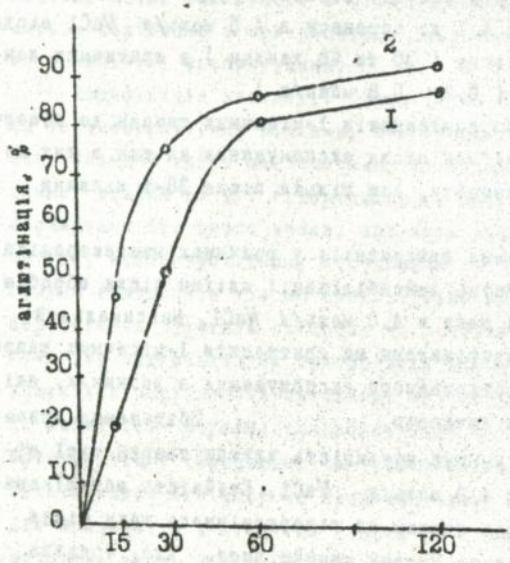
Спрямованність та ступінь впливу геміна на стійкість еритроцитів 1- і 12-місячних білих щурів до гіпертонічного шоку в 4,0 моль/л $NaCl$ залежить від умов експонування в неелектролітному середовищі. Еритроцити щурів старшої вікової групи протектуються модифікатором білка смуги 4,1 до переносу в 4,0 моль/л $NaCl$ після тривалого експонування клітин (30 та 60 хвилин) в критичних концентраціях неелектроліта (0,7 - 0,8 моль/л).

Протектування геміном еритроцитів 1-місячних тварин до гіпертонічного шоку спостерігається після експонування клітин в тих же умовах середовища неелектроліту, але тільки після 30-і хвилини і в значно меншій мірі.

Тривалість експонування еритроцитів у розчинах неелектроліта має суттєвий вплив на ступінь сенсибілізації клітин після обробки геміном до гіпертонічного шоку в 4,0 моль/л $NaCl$. Максимальний сенсибілізуючий вплив модифікатора на еритроцити 1-місячних тварин спостерігається після короткочасного експонування в розчинах, які містять 0,27 - 0,7 моль/л сахарози. Збільшення тривалості експонування різко знижує чутливість клітин тварин цієї вікової групи до переносу в 4,0 моль/л $NaCl$. Стійкість модифікованих еритроцитів 12-місячних тварин до гіпертонічного шоку після початкової інкубації в тих же умовах значно вища. Але, тривале експонування еритроцитів у неелектролітному середовищі з концентра-



Мал. 2. Швидкість виснаження по АТФ еритроцитів щурів різного віку в присутності йодоацетаміда ($6,0 \times 10^{-3}$ моль/л).
1 - 1-місячні тварини,
2 - 12-місячні тварини.



Мал. 3. Агглютинація еритроцитів щурів різного віку в присутності конканаліну А (67,5 мкг/мл).
1 - 1-місячні тварини,
2 - 12-місячні тварини.

цілями неелектроліта нижче критичних підсилює сенсибілізуючий вплив гемінa на клітини указанної групи тварин (мал. 3б).

Таким чином, вплив хімічних модифікаторів, як і осмотичних умов середовища на еритроцити таких залежить від віку тварин. Це можна пояснити неоднаковою чутливістю сформованих периферичними білками (білком смуги 4,1 та 2,1, включаючи білки смуги 3) контактних зон, які забезпечують прикріплення цитоскелета до мембрани і контролюють осмотичну і холодову чутливість клітин (Рамазанов В.В., 1994 р.).

Вплив виснаження АТФ в присутності йодоацетаміда на стійкість еритроцитів білих щурів різного віку до дії гіпертонічного та температурного фактора середовища

Багаточислені експериментальні дані свідчать про значний вплив АТФ на збереження та підтримання цілого ряду властивостей та характеристик еритроцитарних клітин, які забезпечують високу ефективність її функціонування (Слобоханіна Є.І., *Mosier M.*, 1990).

Використовуючи метод "швидкого" виснаження еритроцитів по АТФ в присутності йодоацетаміда ($6x10^{-3}$ моль/л) показано, що еритроцити тварин 1- і 12-місячного віку характеризуються різними швидкостями падіння рівня внутріклітинного АТФ (мал. 2). Еритроцити 1-місячних білих щурів втрачали в перші 30 хвилин біля 70% АТФ, а за 2 години "швидкого" виснаження рівень АТФ досягав нульового значення (мал. 2). Швидкість виснаження по АТФ еритроцитів 12-місячних тварин була значно вища. На кінець експерименту рівень АТФ досягав 20% від початкового.

Зниження рівня внутріклітинного АТФ нижче 10% різко підвищує чутливість еритроцитів до гіпертонічного сахарозного середовища. Стійкість клітин щурів 12-місячного віку зростає до зсуву температур (37°C -- 0°C) у розчинах неелектроліта при виснаженні еритроцитів по АТФ до 22% та 30% від початкового рівня. При досягненні вказаного рівня внутріклітинного АТФ чутливість еритроцитів 1-місячних тварин до дії температурного фактора середовища не змінюється.

Таким чином, метаболічний стан клітин еритроцитарної популяції змінюється у процесі онтогенеза і може бути однією з причин розвитку особливостей структурного стану цитоскелета та плазматичної мембрани еритроцитів 1- та 12-місячних щурів.

Агглютинація еритроцитів білих щурів різного віку в присутності конканавалiна А.

Рецепторний апарат, у тому числі і місця зв'язування конканавалiна А, які розміщені на білку смуги 3 еритроцитів, змінюється в процесі старіння клітин (Shinozuka , 1988).

Збільшення концентрацій конканавалiна А з 67,5 мкг/мл до 135 мкг/мл підвищує швидкість агглютинації еритроцитів щурів різного віку. Однак, незалежно від використаної концентрації лектину, середня швидкість агглютинації еритроцитів 12-місячних тварин в перші 15 хвилин була у 2 рази вища, ніж клітин щурів молодшої вікової групи. При цьому рівень агглютинації, який розвивається до закінчення 120-хвилинного експонування у інкубаційному середовищі, еритроцитів щурів різного віку достовірно не відрізняється (мал. 3).

Можна припустити, що це зумовлено відсутністю значної різниці у густині рецепторних місць на одиницю площі поверхні еритроцитів тварин різного віку. Але, конформаційний стан білка смуги 3, напевно, суттєво відрізняється у еритроцитах 1- та 12-місячних щурів, що зумовлює різний ступінь доступності рецепторних місць до лектину. Це може бути наслідком вікових змін цілого ряда структур в процесі старіння еритроцитів, які впливають на конформації білка смуги 3. У числі вказаних компонентів можуть бути гемоглобін та продукти його окислення (Kay M.M. , 1990), вплив рівня внутрішньоклітинного АТФ на стан білків мембрани.

Виявлені особливості агглютинації еритроцитів білих щурів різного віку є додатковим свідоцтвом різниці якісного складу еритроцитарної популяції клітин 1- та 12-місячних тварин.

ВИСНОВКИ

1. Еритроцити щурів характеризуються високою чутливістю до інкубації у гіпертонічному середовищі, яке містить сахарозу. Найбільша чутливість клітин до дії гіпертонічного фактора середовища проявляється в області критичних концентрацій сахарози, при яких спостерігається розвиток ізотонічного гемолізу клітин. Межі вказаної області концентрацій неелектроліту розширюються при збільшенні часу інкубації, а саме з 0,7 - 0,8 моль/л після 2-х хвилин до 0,5 - 0,9 моль/л на 60 хвилині.

2. Чутливість еритроцитів щурів різного віку, модифікованих в гіпертонічних розчинах сахарози, до дії гіпертонічного шоку в 4,0 моль/л NaCl залежить не тільки від початкового рівня тонічності неелектролітного середовища, але й від тривалості експонування в цих умовах. Чутливість еритроцитів 1-місячних тварин до гіпертонічного неелектролітного середовища та 4,0 моль/л NaCl вища порівняно з клітинами щурів старшої вікової групи.

3. Температурна денатурація анкіріну (+49°С) сенсибілізує еритроцити щурів різного віку гіпертонічного шоку в 4,0 моль/л NaCl, причому тонічність сахарозного середовища не визначає ступінь проявлення вказаного ефекта. Рівень гемолізу модифікованих температурною обробкою еритроцитів 1-місячних тварин в 4,0 моль/л NaCl вище, ніж клітин щурів старшого віку.

4. Хлорпромазин протектує еритроцити 12-місячних тварин від пошкодження в гіпертонічному середовищі, причому ступінь протекції зростав при збільшенні часу експозиції. Чутливість еритроцитів 1-місячних тварин до гіпертонічного неелектролітного середовища не змінюється в присутності хлорпромазина.

5. Хлорпромазин здійснює різнонаправлений вплив на чутливість еритроцитів 1-місячних щурів до переносу в 4,0 моль/л NaCl, характер якого визначається осмотичними умовами інкубації та часом експонування в неелектролітному середовищі. Хлорпромазин знижує осмотичну чутливість клітин, які початково експонувалися в розчинах неелектроліту з високою тонічністю на протязі всього часу інкубації, до 4,0 моль/л NaCl, в той же час початкова експозиція еритроцитів в розчинах з низьким рівнем осмолярності (0,27 - 0,5 моль/л) на протязі 2 хвилин підвищує їх чутливість. Протектурна дія хлорпромазину більш виражена у випадку еритроцитів 12-місячних тварин в умовах гіпертонічного шоку (4,0 моль/л NaCl) порівняно з клітинами 1-місячних щурів.

6. Гемін підвищує чутливість еритроцитів щурів різного віку до гіпертонічного сахарозного середовища, причому рівень сенсибілізації клітин 1-місячних тварин вищий порівняно з еритроцитами 12-місячних тварин.

7. Вплив геміну на чутливість еритроцитів щурів різного віку до переносу в 4,0 моль/л NaCl має біфазний характер.

Після експонування клітин у розчинах, які містять 0,27 - 0,6 моль/л сахарозу, спостерігається підвищення під впливом геміну

чутливості еритроцитів 1-місячних тварин до гіперосмотичного шоку, а в середовищі з більш високими концентраціями неелектроліту має місце протективний ефект в присутності даної сполуки.

Збільшення часу експонування еритроцитів у розчинах, які містять 0,27 - 0,6 моль/л сахарози зумовлює перехід до різнонаправленого реагування еритроцитів щурів 1- та 12-місячного віку на дію гіперосмотичного шоку при переносі у 4,0 моль/л NaCl. По мірі збільшення часу інкубації клітин 1-місячних тварин в неелектролітному сердовищі їх чутливість до переносу в 4,0 моль/л NaCl в присутності гемину знижується, в той час як еритроцити 12-місячних щурів додатково гемолізують.

8. Швидкість виснаження еритроцитів по АТФ в присутності йодоацетаміда різна для клітин 1- і 12-місячних щурів. Еритроцити щурів молодшої вікової групи виснажуються швидше, ніж клітини 12-місячних тварин, втрачаючи на протязі перших 30 хвилин більше 60% початкового вмісту АТФ, в той час як у клітинах 12-місячних тварин втрати становлять лише 30%.

9. Еритроцити 1- та 12-місячних тварин характеризуються різною швидкістю агглютинації в присутності конканаваліну А. Незалежно від використаної концентрації лектину швидкість агглютинації еритроцитів 12- місячних тварин в 2 рази вища порівняно з клітинами тварин молодшої вікової групи на протязі перших 15 хвилин, але кінцевий рівень агглютинації еритроцитів 1- та 12-місячних щурів не відрізняються.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Шеремет Л.В., Бондаренко В.А. Ступінь дегідратації і стійкість еритроцитів білих щурів до осмотичного та температурного шоку // в сб.: VI Український біохімічний з'їзд.-1992.-ч.1.- с 105.

2. Шеремет Л.В. Осмотическая чувствительность эритроцитов крыс разного возраста в гипертонических средах. Сборник научных работ аспирантов ХГУ: естественные и физико-математические науки. Харьков: Изд-во "Основа" при ХГУ, 1992.-С.66-71.

3. Шпакова Н.М., Шеремет Л.В. Чувствительность модифицированных хлорпромазином эритроцитов к холодовому шоку //Укр. биохим. журн. - 1993. - т. 65, №1.-С.69-73.

ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

Друк. ХАІ. Т. 100 прим. Замовлення 22.

457365

Ав 30.239