

Влияние ацетазоламида на транспорт ионов водорода и чувствительность эритроцитов человека к гипертоническому криогемолизу

Н.А. ПИСАРЕНКО¹, В.В. РАМАЗАНОВ²

¹Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Гипертонический криогемолиз эритроцитов развивается при охлаждении клеток до околонулевых температур после их предварительной экспозиции в гипертонической среде до начала охлаждения. Первичной фазой модификации состояния клеток на этапе гипертонической инкубации является изменение распределения воды и ионов, что сопровождается уменьшением клеточного объема, а изменение объема – сложным комплексом перестроек структурных элементов и изменением функционального состояния клеток [1]. В зависимости от степени модификации клетка может проявлять пассивный ответ на внешние воздействия, что способно привести к нарушению её структуры, либо активный ответ, который может рассматриваться как адаптация, предотвращающая структурные нарушения [3]. Системы, формирующие активный ответ клетки включают ионный транспорт роль которого необходимо изучить в явлении гипертонического криогемолиза.

Объектом исследования служили эритроциты донорской крови человека II группы, отмытые раствором, содержащим 150 мМ NaCl, 10 мМ трис (рН 7,6). Транспорт анионов сульфата, который осуществляется с обязательным сопряженным переносом протонов, исследовали методом рН-метрии в термостатируемой ячейке объемом 2,5 мл с рН-электродом. Для этого в ячейку вносили по 2 мл исследуемого раствора (110 мМ Na₂SO₄) и при постоянном перемешивании вносили эритроцитарную массу объемом 50 мкл. Изменение рН суспензии клеток записывали с помощью самописца. В работе также исследовалось влияние продолжительности инкубации (0-60 мин) эритроцитов человека при 37°C в средах дегидратации (1,2 М NaCl, 10 мМ трис, рН=7,6 и 800 мМ Na₂SO₄, 10 мМ трис, рН 7,6) на уровень гипертонического криогемолиза эритроцитов с одновременным охлаждением до 0°C (10 мин). Для изучения влияния работы цикла Якобса-Стеварта на чувствительность эритроцитов к гипертоническому криогемолизу клетки предварительно обрабатывали ингибитором карбоангидразы (ацета-

золамидом) в концентрации 5 мМ при 37°C в течение 30 мин [2].

Известно, что транспорт протонов в сульфатной среде контролируется работой цикла Якобса-Стеварта (выходной поток) и хлорид-сульфатным обменом (входной поток) [4]. Предварительная обработка эритроцитов ацетазоламидом ингибирует выход анионов хлора и протонов в обмен на поступление в клетку гидрокарбоната, что обусловлено блокировкой цикла Якобса-Стеварта. В то же время ацетазоламид не влияет на хлорид-сульфатный обмен, осуществляемый белком полосы 3. Нами установлено, что данная обработка приводит к снижению чувствительности эритроцитов к гипертоническому криогемолизу не только в сульфатной, но и в хлоридной среде. При этом максимальный уровень сохранности (75%) в сульфатной среде наблюдается в начальной фазе инкубации клеток после сдвига температуры до 0°C, затем резко падает на 10-й минуте инкубации (23%) и при последующем увеличении продолжительности инкубации в среде, содержащей 800 мМ Na₂SO₄, 10 мМ трис (рН 7,6) сохранность клеток постепенно возрастает. В хлоридной среде наблюдается иная зависимость: с увеличением продолжительности инкубации чувствительность эритроцитов к гипертоническому криогемолизу уменьшается и к 60-й минуте инкубации достигается максимальный уровень сохранности клеток (82%).

Таким образом, чувствительность эритроцитов человека к гипертоническому криогемолизу зависит от работы цикла Якобса-Стеварта, что наблюдается при инкубации клеток в сульфатной среде. Вследствие того, что на фоне входа сульфата выход анионов хлора и протонов водорода ацетазоламидом ингибируется, это, по-видимому, предотвращает достижение клетками минимального объема, что приводит к уменьшению чувствительности эритроцитов к гипертоническому криогемолизу.

Литература

Bonangelino C.J. et al. Osmotic stress-induced increase of phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate requires Vac14p, an activator of the lipid kinase Fab1p // J. Cell. Biol.– 2002.– Vol. 156, N6.– P. 1015-1028.

Адрес для корреспонденции: Рамазанов В.В., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Перейславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-41-35, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Geers C., Gros G. Carbon dioxide transport and carbonic anhydrase in blood and muscle // *Physiol. Rev.*– 2000.– Vol. 80.– P. 681-715.

Pedersen S.F., Hoffmann E. K., Mills J.W. The cytoskeleton and cell volume regulation // *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*– 2001.– Vol.130, N3.– P. 385-399.

Sterling D., Reithmeier R., Casey J. Carbonic anhydrase in the drivers seat for bicarbonate transport // *JOP. J. Pancreas.*– 2001.– P. 165-170.