

УДК: 576.324:612.111

**Морфологическая реакция эритроцитов на изменение электролитного состава среды. I.
Влияние альбумина**

С.В.Руденко¹, Мухамед Хани Румиех², В.А.Бондаренко²

¹*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (Харьков, Украина)*

²*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)*

Показано, что введение эритроцитов в неэлектролитные сахарозные среды с номинальным отсутствием или очень низким содержанием ионов хлора приводит к характерной трехфазной последовательности изменений их формы, заключающейся в том, что сначала клетки быстро, за время порядка 1 с, трансформируются в сферы, затем за время порядка 15–25 с уплощаются и приобретают значение индекса формы, характерное для нативных дискоидных клеток в физиологическом растворе, после чего снова превращаются в окончательные сферостоматоцитарные формы. Указанная трехфазная последовательность зависит от ионной силы среды и исчезает при увеличении концентрации электролитов (хлоридов натрия или калия или сульфата натрия) в среде свыше 3–5 мМ, переходя в двухфазную, при которой последняя фаза сферостоматоцитоза отсутствует. Таким образом, повышенная ионная сила способствует сохранению более дискоидной формы клеток в неэлектролитной среде. Альбумин, являясь стоматоцитарным агентом, оказывает неоднозначное влияние на последовательность морфологических изменений клеток при увеличении его концентрации в среде, которая проявляется в том, что сначала стабилизируется вторая, более дискоидная фаза, за счет элиминации третьей фазы, а затем стабилизируется первая (сфероподобная) фаза, а вторая и третья отсутствуют. Таким образом, альбумин, который является стабилизатором дискоидной формы эритроцитов в средах с высокой ионной силой, концентрационно-зависимым образом потенцирует сфероцитоз в средах с низкой ионной силой.

Ключевые слова: *эритроциты, форма, низкая ионная сила, сахароза, альбумин.*

Введение

Введение эритроцитов в среды с низкой ионной силой, в которых электролит хлорид натрия изосмотически замещен на сахарозу, приводит к ряду эффектов, которые не наблюдаются в средах с высокой ионной силой. Происходит деполяризация мембраны (Glaser et al., 1987; Bennekou et al., 2004), увеличивается ее проницаемость для калия и натрия (Sambasivarao et al., 1986; Bernhardt et al., 1987), а также более крупных молекул (Culliford et al., 1995), происходит закисление внеклеточной среды и защелачивание цитоплазмы клеток (Sambasivarao et al., 1986; Jones, Knauf, 1985; Zeidler, Kim, 1979; Kummerow et al., 2000). В условиях деполяризации в мембране активируется неселективный потенциал-зависимый канал (NSVDC – nonselective voltage dependent channel) (Kaestner et al., 2000; Barksman et al., 2004; Bennekou et al., 2004), который не только обеспечивает выходные потоки ионов калия и поступление части натрия в клетки, но также является проницаемым для ионов кальция, проникновение которого в цитоплазму, в свою очередь, приводит к активации кальций-зависимых калиевых каналов (каналов Гардоша) и сопутствующему увеличению потоков калия из клетки и ее дегидратации (Bennekou et al., 2003, 2004). Уменьшение объема эритроцитов является одним из факторов, который способствует изменению их формы за счет изменения поверхностно-объемного отношения. Другим фактором, как следует из серии работ Глазера и др., является мембранный потенциал, который способствует формированию стоматоцитов при его положительном значении (т.е. деполяризации) и эхиноцитов – при отрицательном значении (Glaser, 1982, 1998; Muller et al., 1986). Согласно данной концепции, в неэлектролитных средах должны формироваться стоматоциты, что и наблюдается экспериментально (Muller et al., 1986; Hartmann, Glaser, 1991). Тем не менее, вопрос о связи формы и потенциала не является окончательно решенным, поскольку другие авторы, на основании полученных ими данных, считают, что стационарная форма эритроцита (эхиноцит или стоматоцит) при определенных внешних условиях в большей степени коррелирует со значением внутриклеточного pH, а не значением мембранного потенциала (Gedde et al., 1995, 1997, 1999; Gedde, Huestis, 1997). В достаточно малой степени исследован и вопрос о динамике морфологических изменений эритроцитов при их помещении в среды с низкой ионной силой. Показано, что в этих условиях, в отличие от физиологических, классический стоматоцитарный агент хлорпромазин может вызывать эхиноцитоз эритроцитов – процесс, который зависит от времени (Hartmann, Glaser, 1991). Интересно, что похожий эффект

трехфазных морфологических превращений, индуцированных хлорпромазином, наблюдается в физиологических условиях на эритроцитах, обработанных ванадатом (Chen, Huestis, 1997). Аналогично, действие других агентов, изменяющих форму эритроцитов, в значительной степени отличается в средах с высокой и низкой ионной силой (Nwafor, Coakley, 1985, 1986). В связи с этим, целью данной работы было исследование особенностей динамики морфологической трансформации эритроцитов человека в средах с низкой ионной силой и влияния на нее непроникающего белка – альбумина, который является стабилизатором дискоидной формы эритроцитов в физиологических условиях (Reinhart, Chien, 1987).

Материалы и методы

Работу проводили на свежих эритроцитах человека, которые дважды отмывали в незабуференном физиологическом растворе, а затем осадок разводили в 10 раз в изотоническом растворе HBS (150 mM NaCl, 5 mM HEPES, pH 7,4) и использовали как сток-суспензию. Для изучения изменений формы клеток во времени использовали разработанный нами двухканальный формометр-агрегометр ФА-01, который наряду с измерением оптической плотности (ОП) или светопропускания измеряет и флуктуации интенсивности светового потока, которые несут информацию о форме клеток. Индекс формы (ИФ) рассчитывался по протоколу, описанному ранее для определения формы эритроцитов (Руденко и др., 1998; Руденко, 2006) и вычислялся по формуле $ИФ = k \cdot D$, где k – постоянный коэффициент, зависящий от коэффициента усиления сигнала и от калибровки прибора, а D – среднеквадратичное значение амплитуды флуктуаций светового потока. Калибровочный коэффициент k позволяет сформировать шкалу измерений ИФ, который отражает степень дискоидности эритроцитов (1 – для дисков и нуль – для сфер). В цилиндрическую стеклянную кювету диаметром 10 мм, содержащую 2 мл HBS, добавляли 9–11 мкл сток-суспензии эритроцитов таким образом, чтобы начальное значение ОП было в пределах $0,30 \pm 0,02$, что соответствует концентрации эритроцитов порядка $6 \cdot 10^6$ в 1 мл. Клеточная суспензия перемешивалась магнитной мешалкой со скоростью 600 об/мин. Динамика морфологических изменений изучалась при введении клеток в незабуференную среду, содержащую 300 mM сахарозы (Merck), pH 5,8. Изменение электролитного и качественного состава этого раствора осуществляли путем замещения его части (от 20 до 200 мкл) изотоническим раствором соответствующей соли или концентрированного раствора сывороточного альбумина человека с концентрацией 50 мг/мл (Россия).

Стационарная морфология клеток в кювете контролировалась оптической микроскопией в тонком жидком слое без применения фиксирующих агентов, чтобы исключить эффект стекла (Eriksson, 1990).

На рисунках представлены типичные данные, от 3 до 5 независимых экспериментов, проведенных с кровью различных доноров при температуре 19–21°C.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 показаны типичные примеры изменения ОП и ИФ эритроцитов, помещенных в изотонический раствор сахарозы с различным содержанием хлорида натрия. Видно, что морфологическая реакция эритроцитов является достаточно сложной и в контроле, т.е. в условиях номинального отсутствия соли в среде, состоит по крайней мере из трех фаз, которые определяют то, что кривая зависимости ИФ от времени выглядит в виде пика. Такая форма этой зависимости указывает на то, что сразу после помещения клеток в раствор сахарозы клетки быстро сферулируются, что фиксируется по значительному уменьшению ИФ (фаза 1), однако затем значение ИФ восстанавливается до величин, характерных для дискоидных клеток в физиологическом растворе, 1,0–1,2 (фаза 2), после чего ИФ снова падает (фаза 3). Эксперименты, проведенные с кровью различных доноров и с образцами сахарозы различных производителей, показали довольно широкую вариабельность в динамике изменений ОП и ИФ в приведенных условиях. Хотя характерная трехфазная закономерность сохранялась практически во всех случаях, конкретные ее параметры, характеризующие указанные выше фазы процесса, могли значительно варьировать, отличаясь в несколько раз. Это говорит о том, что морфологическая реакция эритроцитов на изменение ионной силы среды является многофакторной и, по-видимому, часть факторов, которые ее определяют, могут быть скрыты в предыстории образцов крови, определяться их индивидуальными особенностями, а также довольно сильно зависеть от конкретных условий окружения. С другой стороны, это дополнительно подтверждает тезис о том, что форма эритроцитов является очень чувствительным параметром, отражающим взаимодействие эндогенных клеточных процессов и внешних условий среды (Рязанцева и др., 2004). Чтобы ограничить указанную вариабельность, в данной работе отбирались только те образцы крови, которые в контроле демонстрировали характерную трехфазную зависимость, показанную на рис. 1, для которой время достижения

максимума ИФ было около 20 с. Сама же природа вариабельности требует отдельного исследования, которое предполагается осуществить в дальнейшем.

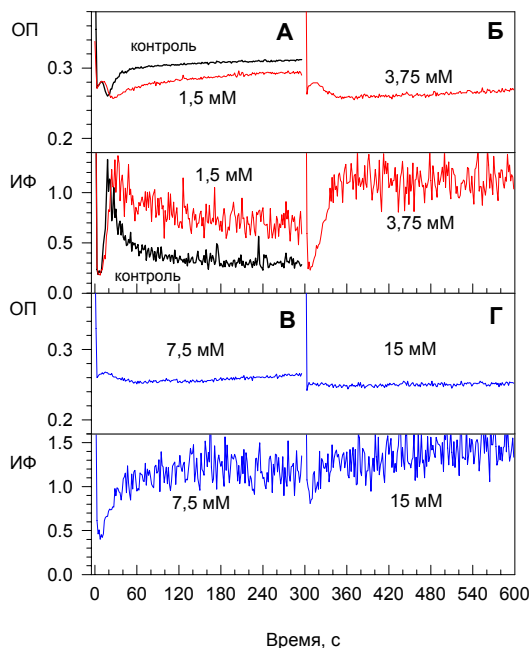


Рис. 1. Динамика изменений ОП и ИФ суспензии эритроцитов, помещенных в сахарозные среды (0,3 М) с различным содержанием NaCl в мМ: А – 1,5; Б – 3,75; В – 7,25; Г – 15. Кривая контроль соответствует сахарозной среде без соли

Как следует из рис. 1, незначительное увеличение ионной силы сахарозной среды до 3,75 мМ приводит сначала к элиминации фазы 3, а при дальнейшем ее увеличении и остальных фаз 1 и 2. При концентрации NaCl в среде, равной 15 мМ и выше, ИФ клеток мало изменяется при их переносе из физиологического раствора в раствор сахарозы. Если для фазы 3 этот результат очевидно следует из рис. 1, то для фаз 1 и 2 существует определенная вероятность того, что они протекают за время, меньшее 2 секунд (мертвое время перемешивания суспензии), и поэтому не могут быть уверенно зарегистрированы. На наш взгляд, этот вариант является маловероятным, если учесть, что скорость увеличения ИФ на фазе 2 при возрастании ионной силы сахарозной среды (3,75 и 7,5 мМ NaCl) уменьшается, а не увеличивается. Это позволяет заключить, что увеличение ионной силы среды до 15 мМ и выше приводит к элиминации первой фазы сферуляции эритроцитов. Аналогичный результат был получен для KCl и Na₂SO₄, что свидетельствует в пользу того, что трехфазная последовательность морфологических превращений определяется, главным образом, не типом анионов и катионов, а ионной силой среды.

Данные о влиянии альбумина на динамику морфологических превращений эритроцитов в сахарозной среде, номинально не содержащей ионов, показаны на рис. 2. Влияние альбумина, которое заключается в ингибировании фазы 3, обнаруживается уже при низких концентрациях белка (5–50 мкг/мл). В этом случае альбумин действует подобно увеличению ионной силы (рис. 1) и стабилизирует фазу 2. Однако в отличие от ионной силы, эффект которой достигает насыщения, дальнейшее увеличение концентрации альбумина приводит к последующей элиминации фазы 2, что происходит в относительно небольшом интервале концентраций альбумина. В результате, при максимальной указанной концентрации и выше (данные не приведены) ИФ быстро достигает минимума и больше не увеличивается, что свидетельствует о том, что альбумин способствует первичной сферуляции эритроцитов, т.е. стабилизирует фазу 1. Таким образом, альбумин, в зависимости от концентрации, может стабилизировать как квази-дискоидную форму эритроцитов в сахарозной среде, так и их сфероцитоз, что хорошо видно из рис. 3. Благодаря такому свойству альбумина зависимость стационарного ИФ от концентрации альбумина имеет характерный вид с максимумом, положение которого соответствует концентрации белка, стабилизирующей фазу 2.

Данные показывают, что колоколообразная форма этой зависимости сохраняется, но положение максимума, как видно, для разных доноров может отличаться (рис. 3).

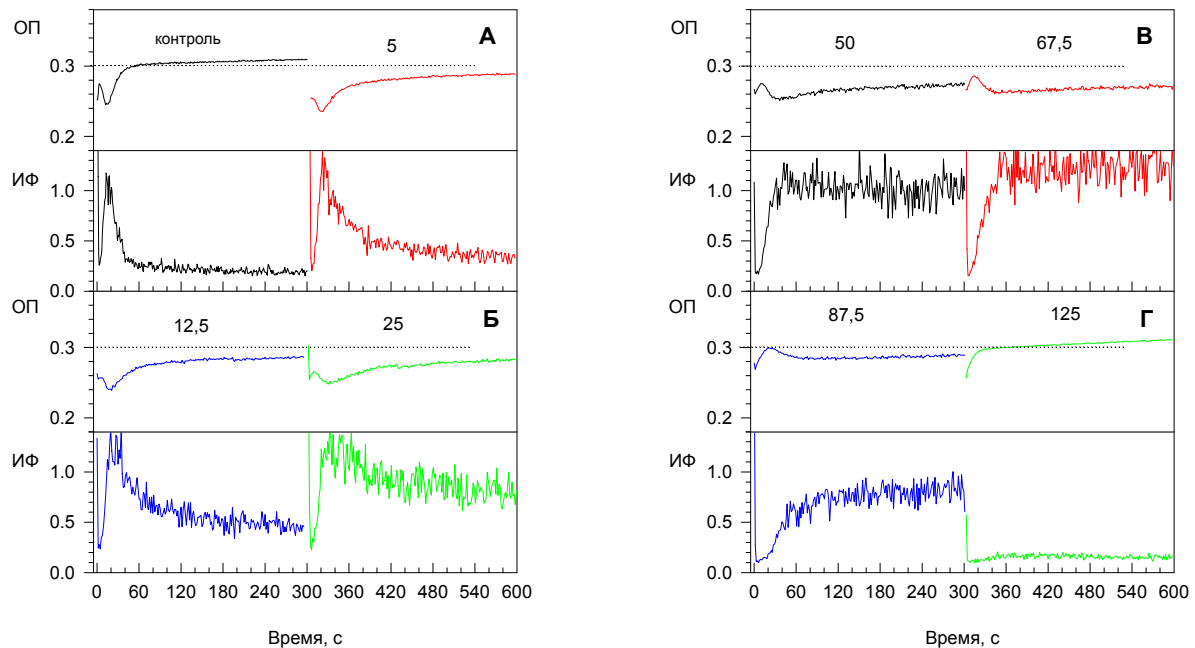


Рис. 2. Влияние альбумина на динамику изменения ОП и ИФ суспензии эритроцитов после их введения в изотоническую среду сахарозы (0,3 М), содержащую альбумин. Концентрация альбумина в среде в мкг/мл: А – первая кривая 0 (контроль); вторая кривая – 5. Б – первая кривая – 12,5; вторая кривая – 25. В – первая кривая – 50; вторая кривая – 67,5. Г – первая кривая – 87,5; вторая кривая – 125.

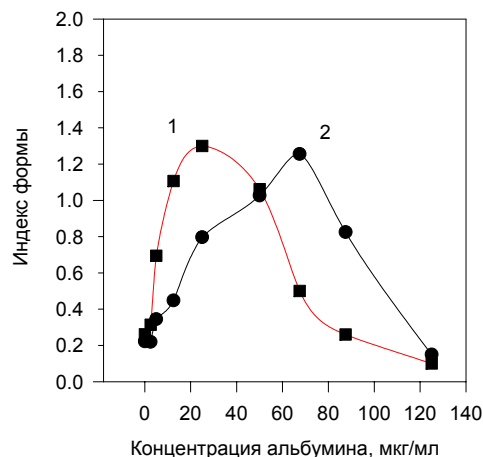


Рис. 3. Влияние альбумина на стационарное значение ИФ, измеренного через 5 мин после введения клеток в среду 0,3 М сахарозы, содержащей альбумин. Кривая 1 – донор 1, кривая 2 – донор 2

Поскольку индекс формы определяет среднюю по популяции степень дискоидности клеток и не может определить, какой именно тип морфологических изменений происходит в каждом конкретном

случае, мы проводили также микроскопические наблюдения за клетками в процессе их трансформации. Было установлено, что в фазе 3 контрольные клетки представляют собой гладкие, близкие к сферическим объекты – сферостоматоциты, а в фазе 2 – формы, не являющиеся дискоцитами и классическими стоматоцитами, но тем не менее, относящиеся к стоматоцитарным, инвагинированным формам. Зафиксировать клетки в фазе 1 не удалось из-за большой скорости процесса формотрансформации на этой фазе, но наблюдения показывают, что и в этой фазе, как и следовало ожидать, исходя из результатов других авторов (Muller et al., 1986), происходят преобразования по типу стоматоцитоза и сферостоматоцитоза. Однако введение эритроцитов в среду, содержащую альбумин, приводит к тому, что в фазе 2, которая стабилизируется альбумином и в которой ИФ имеет большую величину, обнаруживается большое количество эхиноцитов, а увеличение концентрации альбумина усиливает этот эффект, приводя в конечном счете к сферозехиноцитозу на фазе 1. Исходя из этих данных, можно сказать, что в неэлектролитных средах альбумин меняет знак своего действия и приобретает свойства эхиноцитарного агента, в отличие от его действия в физиологических средах, где он выступает как слабый стоматоцитарный агент или стабилизатор дискоидной формы эритроцитов (Reinhart, Chien, 1987; Nwafor, Coakley, 1985).

Из работ (Nwafor, Coakley, 1985, 1986) известно, что как эхиноцитарные, так и стоматоцитарные агенты могут изменять направленность своего действия на форму эритроцитов в зависимости от ионной силы среды. Так, катионные агенты хлорпромазин и тетракаин индуцировали меньшую степень стоматоцитоза в 60 мМ растворе хлорида, чем в 145 мМ при 37°C, а при 20°C тетракаин обращал свое стоматоцитарное действие на эхиноцитарное. Аналогично анионные вещества индометацин и барбитон индуцировали эхиноцитоз в 145 мМ NaCl и стоматоцитоз в 60 мМ NaCl. Предположительно, эти эффекты связаны с влиянием мембранного потенциала, связанного с распределением ионов хлорида, на перераспределение заряженных агентов через мембрану, таким образом, что наблюдаемые изменения формы находятся в соответствии с моделью бислоевой пары (Sheetz, Alhanaty, 1983). Гликокаликс при этом не оказывает влияние на индуцируемую этими веществами формотрансформацию, что свидетельствует о том, что поверхностный потенциал мембраны имеет меньшее значение по сравнению с трансмембранным потенциалом (Nwafor, Coakley, 1985). Однако альбумин, имеющий относительно большой размер, не проникает через мембрану и действует только на ее поверхность, что делает производимые им разнонаправленные эффекты на форму эритроцитов менее понятными. Альбумин вызывает слабый стоматоцитоз при физиологических условиях (Reinhart, Chien, 1987) и предотвращает кренирование клеток на стеклянной поверхности (Eriksson, 1990; Wong, 2005), т.е. противодействует эхиноцитозу. Остается неясным, почему в условиях деполяризации, которые ведут к формированию стоматоцитов, и низкого значения pH, которое также способствует стоматоцитозу (Gedde et al., 1995), стоматоцитарный агент альбумин не усиливает стоматоцитоз, а наоборот, вызывает формирование эхиноцитов. Возможным объяснением может быть его свойство связываться с липидами и жирными кислотами и экстрагировать их из мембраны (Broring et al., 1989; Chen, Huestis, 1997). Не исключено, что в условиях значительной деполяризации, которая превышает определенный уровень, и активации потенциал-зависимого канала может наблюдаться быстрое перераспределение липидных или белковых компонентов между двумя бислоями, как это происходит при наложении на эритроциты импульсов электрического поля, что приводит к симметризации бислоев (Schwarz et al., 1999). Показано, что альбумин уменьшает развитие эхиноцитоза в пределах первых нескольких секунд после приложения электрического импульса (Baumann, 2001). Вероятно, присутствующий в неэлектролитной среде альбумин может избирательно и концентрационно-зависимым образом влиять на экстракцию мембранных компонентов таким образом, что в результате произойдет обогащение ими внешнего монослоя, что приведет к увеличению его поверхностной площади и формированию эхиноцитов.

Список литературы

- Руденко С.В. Агрегация эритроцитов как модель агрегации тромбоцитов // Биологические мембраны. – 2006. – Т.23, №1. – С. 61–68.
- Руденко С.В., Кроуф Дж.Х., Таблин Ф. Изменение формы эритроцитов в зависимости от времени // Биохимия. – 1998. – Т.63, №12. – С. 46–55.
- Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Степовая Е.А., Ткаченко С.Б. Эритроцит при патологии: размышления у электронного микроскопа // Архив патологии. – 2004. – Т.66, №3. – С. 53–61.
- Barksmann T.L., Kristensen B.I., Christophersen P., Bennekou P. Pharmacology of the human red cell voltage-dependent cation channel. Part I. Activation by clotrimazole and analogues // Blood Cells Mol. Dis. – 2004. – Vol.32, №3. – P. 384–388.
- Baumann M. Early stage shape change of human erythrocytes after application of electric field pulses // Mol. Membr. Biol. – 2001. – Vol.18, №2. – P. 153–160.

- Bennekou P., Barksman T.L., Kristensen B.I. et al. Pharmacology of the human red cell voltage-dependent cation channel. Part II: inactivation and blocking // *Blood Cells Mol. Dis.* – 2004. – Vol.33, №3. – P. 356–361.
- Bennekou P., Kristensen B.I., Christophersen P. The human red cell voltage-regulated cation channel. The interplay with the chloride conductance, the Ca(2+)-activated K(+) channel and the Ca(2+) pump // *J. Membr. Biol.* – 2003. – Vol.195, №1. – P. 1–8.
- Bernhardt I., Erdmann A., Vogel R., Glaser R. Factors involved in the increase of K⁺ efflux of erythrocytes in low chloride media // *Biomed. Biochim. Acta.* – 1987. – Vol.46, № 2–3. – P. S36–S40.
- Broring K., Haest C.W., Deuticke B. Translocation of oleic acid across the erythrocyte membrane. Evidence for a fast process // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1989. – Vol.986, №2. – P. 321–331.
- Chen J.Y., Huestis W.H. Role of membrane lipid distribution in chlorpromazine-induced shape change of human erythrocytes // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1997. – Vol.1323, №2. – P. 299–309.
- Culliford S.J., Bernhardt I., Ellory J.C. Activation of a novel organic solute transporter in mammalian red blood cells // *J. Physiol.* – 1995. – Vol.489, Pt 3. – P. 755–765.
- Eriksson L.E. On the shape of human red blood cells interacting with flat artificial surfaces – the “glass effect” // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1990. – Vol.1036, №3. – P. 193–201.
- Gedde M.M., Davis D.K., Huestis W.H. Cytoplasmic pH and human erythrocyte shape // *Biophys. J.* – 1997. – Vol.72, №3. – P. 1234–1246.
- Gedde M.M., Huestis W.H. Membrane potential and human erythrocyte shape // *Biophys. J.* – 1997. – Vol.72, №3. – P. 1220–1233.
- Gedde M.M., Yang E., Huestis W.H. Shape response of human erythrocytes to altered cell pH // *Blood.* – 1995. – Vol.86, №4. – P. 1595–1599.
- Gedde M.M., Yang E., Huestis W.H. Resolution of the paradox of red cell shape changes in low and high pH // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1999. – Vol.1417, №2. – P. 246–253.
- Glaser R. Echinocyte formation induced by potential changes of human red blood cells // *J. Membr. Biol.* – 1982. – Vol.66, №2. – P. 79–85.
- Glaser R. Does the transmembrane potential ($\Delta\psi$) or the intracellular pH (pH_i) control the shape of human erythrocytes? // *Biophys. J.* – 1998. – Vol.75, №1. – P. 569–570.
- Glaser R., Fujii T., Muller P. et al. Erythrocyte shape dynamics: influence of electrolyte conditions and membrane potential // *Biomed. Biochim. Acta.* – 1987. – Vol.46, № 2–3. – P. S327–S333.
- Hartmann J., Glaser R. The influence of chlorpromazine on the potential-induced shape change of human erythrocyte // *Biosci. Rep.* – 1991. – Vol.11, №4. – P. 213–221.
- Jones G.S., Knauf P.A. Mechanism of the increase in cation permeability of human erythrocytes in low-chloride media. Involvement of the anion transport protein capnophorin // *J. Gen. Physiol.* – 1985. – Vol.86, №5. – P. 721–738.
- Kaestner L., Christophersen P., Bernhardt I., Bennekou P. The non-selective voltage-activated cation channel in the human red blood cell membrane: reconciliation between two conflicting reports and further characterization // *Bioelectrochemistry.* – 2000. – Vol.52, №2. – P. 117–125.
- Kummerow D., Hamann J., Browning J.A. et al. Variations of intracellular pH in human erythrocytes via K⁽⁺⁾(Na⁽⁺⁾)/H⁽⁺⁾ exchange under low ionic strength conditions // *J. Membr. Biol.* – 2000. – Vol.176, №3. – P. 207–216.
- Muller P., Herrmann A., Glaser R. Further evidence for a membrane potential-dependent shape transformation of the human erythrocyte membrane // *Biosci. Rep.* – 1986. – Vol.6, №11. – P. 999–1006.
- Nwafor A., Coakley W.T. Drug-induced shape change in erythrocytes correlates with membrane potential change and is independent of glycocalyx charge // *Biochem. Pharmacol.* – 1985. – Vol.34, №18. – P. 3329–3336.
- Nwafor A., Coakley W.T. Charge-independent effects of drugs on erythrocyte morphology // *Biochem. Pharmacol.* – 1986. – Vol.35, №6. – P. 953–957.
- Reinhart W.H., Chien S. Echinocyte-stomatocyte transformation and shape control of human red blood cells: morphological aspects // *Am. J. Hematol.* – 1987. – Vol.24, №1. – P. 1–14.
- Sambasivarao D., Rao N.M., Sitaramam V. Anomalous permeability and stability characteristics of erythrocytes in non-electrolyte media // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1986. – Vol.857, №1. – P. 48–60.
- Schwarz S., Haest C.W., Deuticke B. Extensive electroporation abolishes experimentally induced shape transformations of erythrocytes: a consequence of phospholipid symmetrization? // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1999. – Vol.1421, №2. – P. 361–379.
- Sheetz M.P., Alhanaty E. Bilayer sensor model of erythrocyte shape control // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1983. – Vol.416. – P. 58–65.
- Wong P. A hypothesis of the disc-sphere transformation of the erythrocytes between glass surfaces and of related observations // *J. Theor. Biol.* – 2005. – Vol.233, №1. – P. 127–135.
- Zeidler R.B., Kim H.D. Effects of low electrolyte media on salt loss and hemolysis of mammalian red blood cells // *J. Cell Physiol.* – 1979. – Vol.100, №3. – P. 551–561.

Морфологічна реакція еритроцитів на зміну електролітного складу середовища. I. Вплив альбуміну**С.В.Руденко, Мухамед Хані Румієх, В.А.Бондаренко**

Показано, що введення еритроцитів у неелектролітні сахарозні середовища з номінальною відсутністю чи дуже низьким вмістом іонів хлору приводить до характерної трифазної послідовності змін їхньої форми, що полягає у тому, що спочатку клітини швидко, за час порядку 1 с, трансформуються в сфери, потім за час порядку 15–25 с сплющуються і здобувають значення індексу форми, характерне для нативних дискоїдних клітин у фізіологічному розчині, після чого знову перетворюються в остаточні сферо-стоматоцитарні форми. Зазначена трифазна послідовність залежить від іонної сили середовища і зникає при збільшенні концентрації електролітів (хлоридів натрію чи калію та сульфату натрію) у середовищі понад 3–5 мМ, переходячи у двофазну, при якій остання фаза сферостоматоцитозу відсутня. Таким чином, підвищена іонна сила сприяє збереженню більш дискоїдної форми клітин у неелектролітному середовищі. Альбумін, будучи стоматоцитарним агентом, впливає на послідовність морфологічних змін клітин при збільшенні його концентрації в середовищі, що виявляється у тому, що спочатку стабілізується друга, більш дискоїдна фаза, за рахунок елімінації третьої фази, а потім стабілізується перша (сфероподібна) фаза, а друга і третя відсутні. Таким чином, альбумін, що є стабілізатором дискоїдної форми еритроцитів у середовищах з високою іонною силою, концентраційно-залежним засобом потенціює сфероцитоз у середовищах з низькою іонною силою.

Ключові слова: *еритроцити, форма, низька іонна сила, сахароза, альбумін.*

Morphological response of erythrocytes on change of electrolyte content of the medium. I. Effect of albumin**S.V.Rudenko, Muhamed Hani Rumieh, V.A.Bondarenko**

It is shown that red blood cells (RBC) placing into the media which contain no or very low amount of chloride ions leads to typical three phase sequence of shape changes. These changes consist of fast transformation into the sphere in a second, followed by shape restoration with shape index close to native discoid cells in physiological saline and final transformation into spherostomatocytes. This three phase response depends on medium ionic strength and disappears when concentration of electrolytes (sodium, potassium chloride or sulfate) is increased up to 3–4 mM transforming after that into two phase sequence in which the last spherostomatocytic phase is absent. Thus elevated ionic strength of the medium favors formation of more discoid cell into non-electrolyte solutions. Being a stomatocytic agent albumin has non-equivocal influence on the sequence of morphological changes of cells when its concentration in the medium is increased. First effect is that second more discoid phase is stabilized at the expense of elimination of third phase, followed by stabilization of first (sphere-like) phase, whereas second and third phases are absent. Therefore it could be concluded that albumin which is a stabilizer of discoid shape in the high ionic strength media, induces in a concentration dependent manner a spherocytosis in the media of low ionic strength.

Key words: *erythrocyte, shape, low ionic strength, sucrose, albumin.*

Представлено Н.І.Пандікідає
Рекомендовано до друку Н.О.Бабенко