

ГІПОТЕРМІЧНЕ ЗБЕРІГАННЯ ЕРИТРОЦИТІВ СОБАК: БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ

Гребенюк К.Р., здобувач вищої освіти ОП «Ветеринарна медицина»

Науковий керівник – **Денисова О.М.**, к. біол. н., доцент

Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

Інтерес до питання тривалого зберігання крові собак обумовлений збільшенням кількості домашніх улюбленців, зростанням гематологічних захворювань серед них, а також недостатньою кількістю донорів та складністю відбору крові за фенотиповими характеристиками.

Гіпотермічне зберігання компонентів крові набуває все більшої популярності, оскільки клітини можуть зберігатися в звичайних холодильниках при температурі +4 °С до 35 днів і можуть бути застосовані одразу ж за першою вимогою [1, 5]. До складу середовищ для гіпотермічного зберігання входять Ca^{2+} -зв'язуючі сполуки (ЕДТА/ЕГТА, цитрат), відновлюючі цукри (глюкоза, маніт, сорбіт) та неорганічні фосфати для підтримання рівня АТФ та 2,3-ДФГ у клітинах.

Однак використання гіпотермії для збереження еритроцитів обмежене через біологічні та біохімічні зміни, відомі як пошкодження при зберіганні, які включають зміни метаболізму та градієнтів катіонів, окислення, везикуляцію, втрату та зшивання смуги 3 мембрано-цитоскелетного комплексу, знижену деформованість та незворотний ехіноцитоз, гемоліз [2, 3, 6]. Згідно з сучасною теорією накопичувального пошкодження, падіння рівня АТФ послаблює антиоксидантний захист клітин, що призводить до зниження активності глутатіонпероксидази та пошкодження клітин активними формами кисню. Показано, що рівні малонового діальдегіду, аскорбату, дегідроаскорбінової кислоти, інтерлейкіну-6 значно зростають протягом періоду зберігання, що свідчить про прогресуючий оксидативний стрес у клітинах під час зберігання. Він спричиняє руйнування цитоскелету, агрегацію смуги 3 та вивільнення везикул. Показано, що зберігання еритроцитів в анаеробних умовах значно зменшує окислювальне пошкодження, швидкість гемолізу і, таким чином, подовжує життєздатність клітин [6].

Відомо, що близько 25% еритроцитів, що довго зберігалися (понад 5 тижнів), відразу вилучаються з кровообігу під час посттрансфузійного періоду. Механізм, за допомогою якого 25% перелитих еритроцитів зникають із кровообігу через один день, погано вивчений [3]. Одне з пояснень стосується шкідливих змін у метаболізмі еритроцитів і біологічних функціях, що характеризується гіпотермічним зберіганням. Це явище зазвичай називають «гіпотермічним накопиченням».

Роль неселективних катіонних каналів, проникних для Ca^{2+} , у стимуляції суїцидальної загибелі клітин (також відомої як ериптоз) добре описано. Відомо, що ериптоз запускається збільшенням цитозольної концентрації Ca^{2+} , що призводить до посилення скремблювання клітинної мембрани, її розриву та скорочення клітин [4]. Трансфузія гіпотермічно збережених клітин, що утримуються в середовищах з низьким вмістом Ca^{2+} , індукує активацію Ca^{2+} -провідності, що може стимулювати суїцидальну загибель клітин. Еритроцити швидко виводяться з кровотоку лімфоцитами та макрофагами, збільшуючи перевантаження печінки та селезінки. Природне старіння, а також ериптоз призводять до осмотичної втрати води клітинами та зменшення об'єму клітини. Відомо, що аквапорин 9 сприяє катіонній проникності еритроцитів, діючи як катіон-провідний канал або регулюючи активність інших катіонних каналів. Додавання флоретину, природного антиоксиданту [2, 4], який блокує

транспортер глюкози та водні канали, до розчину консерванту еритроцитів може запобігти зменшенню клітин і, таким чином, підвищити їх виживання.

Неферментативне глікування - це неферментативний незворотній процес, якому сприяє тривалий вплив на еритроцити високих концентрацій глюкози, що, як відомо, відбувається при низькотемпературному консервуванні крові. Прогресуюче накопичення глікованих кінцевих продуктів спостерігали при гіпотермічному зберіганні еритроцитів [6]. Гліковані еритроцити людини демонструють підвищену активність неселективних (Ca^{2+} -проникних) катіонних каналів. На цей час L-карнозин, поглинач активних форм кисню та інгібітор неферментативного глікування, використовується як компонент розчину для консервування крові, який може запобігти утворенню глікованих кінцевих продуктів та покращити виживання збережених клітин.

Таким чином, тривале гіпотермічне зберігання може призвести до денатурації гемоглобіну і окислення гемового заліза. Денатуровані продукти гемоглобіну здатні утворювати комплекси з мембранними фосfolіпідами та білками цитоскелету, що призводить до окислення ліпідів і білків. Комплекси Hb-мембрани можуть сприяти вивільненню мембранних везикул, що містять Hb, під час гіпотермічного зберігання. Підвищене окислювальне пошкодження також є наслідком порушеної антиоксидантної активності (глутатіону, каталази) і присутності молекулярного кисню, доступного для окисно-відновних реакцій. Також взаємодія між еритроцитами та компонентами контейнера для зберігання може сприяти окислювальному пошкодженню.

Гіпотермічне зберігання еритроцитів собак має великий потенціал для ветеринарної гематології, трансфузіології та невідкладної допомоги у практиці. Майбутні дослідження в цій галузі дозволять створити стандартизовані протоколи для гіпотермічного зберігання і переливання еритроцитів собак, котрі мають важливе значення для забезпечення відтворюваності та безпеки у ветеринарній практиці.

Бібліографічний список:

1. Жегунов ГФ, Денисова ОМ, Жегунова ГП: Гіпотермічне зберігання крові та кріоконсервування еритроцитів собак. *Probl Cryobiol Cryomed* 2022; 32(4):245–255. <https://doi.org/10.15407/cryo32.04.245>
2. Flatt JF, Bawazir WM, Bruce LJ: The involvement of cation leaks in the storage lesion of red blood cells. *Front Physiol* 2014;5:214. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00214>
3. Scott KL, Lecak J, Acker JP: Biopreservation of red blood cells: past, present, and future. *Transfus Med Rev* 2005; 19, 127–142. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2004.11.004>
4. Steffen P, Jung A, Nguyen DB, Müller T, Bernhardt I, Kaestner L, Wagner C: Stimulation of human red blood cells leads to Ca^{2+} -mediated intercellular adhesion. *Cell Calcium* 2011; 50:54-61. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2011.05.002>
5. Wardrop K J, Tucker RL, Mugnai K: Evaluation of canine red blood cells stored in a saline, adenine, and glucose solution for 35 days. *Journal of veterinary internal medicine* 1997; 11(1), 5–8. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1997.tb00065.x>
6. Yoshida T, Shevkoplyas SS: Anaerobic storage of red blood cells. *Blood Transfus* 2010;8:220-236. <https://doi.org/10.2450/2010.0022-10>