

**ЗБЕРЕЖЕНІСТЬ ЕРИТРОЦИТІВ ТА ДИНАМІКА ЗМІН  
КОНЦЕНТРАЦІЇ ІОНІВ КАЛІЮ І НАТРІЮ КРОВІ ТВАРИН ЗАЛЕЖНО  
ВІД СПОСОБУ ЇЇ КОНСЕРВУВАННЯ**

*О.В. Арнаута, кандидат ветеринарних наук*

*Висвітлено результати дослідної роботи щодо вивчення ефективності кровозберігаючої дії середовища, яке містить різні форми вугільної кислоти ( $pCO_2$ ;  $HCO_3^-$ ), порівняно із стандартним глюкозо-цитратним консервантом Глюгіцир. Критеріями оцінки ефективності гемоконсервантів була збереженість еритроцитів і динаміка концентрації іонів калію та натрію плазми консервованої крові тварин. Встановлено, що за умов комбінованої дії вуглекислого газу, бікарбонатів і низьких температур ( $2-4^0$  C) збереженість еритроцитів значно вища, ніж у контролі. У дослідних зразках консервованої крові зберігається стабільність натрій-калієвого градієнту. Консервування бікарбонат-вуглекислотним середовищем забезпечує кращу збереженість донорської крові і подовжує термін її технологічного використання.*

**Ключові слова:** гіпобіоз, консервація, кров, еритроцити, іони, натрій, калій, вуглекислий газ, натрію бікарбонат.

За вікову історію розвитку гемотрансфузіології було запропоновано багато різних кровозберігаючих середовищ. Вітчизняна наука також має значні здобутки у цій галузі. Але значним недоліком вітчизняних гемоконсервантів є короткий термін якісного зберігання крові. Вітчизняні глюкозо-цитратні консерванти дають можливість зберігати кров протягом двадцяти одної доби. Хоча, як показує досвід станцій з переливання крові, оптимальними термінами для якісного зберігання консервованої крові донора є сім-десять діб [10]. Тому, не зважаючи на давність проблеми консервації крові, розробка нових ефективніших середовищ для її збереження є актуальною і нині.

Цікавим і водночас актуальним в питанні розробки та впровадження у практику нових способів консервації біологічних матеріалів є використання стану гіпобіозу, коли відбувається тимчасове зниження життєдіяльності, при якому метаболізм і функціонування живих систем послаблюється за рахунок дії тих чи інших гіпобіотичних факторів [2, 5, 9].

Відомо, що у консервованій крові при зберіганні спостерігаються різні метаболічні зміни, які значною мірою можуть вплинути на збереженість формених елементів, у тому числі еритроцитів. Відомо, що досить чутливою до факторів зберігання в еритроцитах консервованої крові є система транспорту електролітів через клітинну мембрану і зокрема натрію та калію [4, 6]. Тому, для подовження життєздатності еритроцитів консервованої донорської крові важливо забезпечити стабільність цієї системи. Для вирішення цього завдання ми використали стан штучного вуглекислотного гіпобіозу. Свого часу його використання дало позитивний результат при консервуванні генеративних клітин сільськогосподарських тварин [7, 8]. Консервуючий вплив цього виду гіпобіозу пояснюється тим, що під дією високих концентрацій різних форм вуглекислоти відбувається значне гальмування обмінних процесів [1, 9].

**Мета досліджень** - вивчення впливу високих концентрацій різних форм вугільної кислоти ( $p\text{CO}_2$ ;  $\text{HCO}_3^-$ ) на стабільність градієнту концентрації між плазмою та форменими елементами консервованої донорської крові таких електролітів як натрій та калій ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) і аналіз збереженості еритроцитів.

**Матеріали і методи досліджень.** Для досліджень брали зразки крові у 10-12 місячних бичків. Для досліду відбирали клінічно здорових тварин за методом аналогів. З метою вивчення дії різних форм вуглекислоти на збереженість формених елементів крові тварин було сформовано дослідні та контрольні групи зразків крові.

Для формування контрольної групи використано кров законсервовану на гемоконсерванті Глюгіцир. Цей препарат є глюкозо - цитратним розчином (глюкози – 0,029 г/мл; натрію гідрогенфосфату – 0,019 г/мл; води для ін'єкції до

250 мл), призначеним для консервування донорської крові у співвідношенні 1 об'єм розчину до 4 об'ємів крові. Максимальні строки зберігання консервованої крові при температурі від + 2 до + 6 °С – 21 день [11].

Для формування дослідної групи зразків крові, в частину пляшок з глюгіциром вносили бікарбонат натрію в концентрації 40 ммоль/л, після чого цей розчин насичувався CO<sub>2</sub>. При цьому рН вуглекислотного середовища становив 7,40. Необхідно відзначити, що рН глюгіциру становить близько 5,0 за норми рН крові у телят 7,35 – 7,45. У нашій моделі після додавання бікарбонату натрію середовище насичували вуглекислотою для того, щоб максимально наблизити його рН до фізіологічних показників. Кров відбирали з яремної вени за допомогою спеціальних систем у пляшки об'ємом 250 мл з контрольним та дослідним середовищем. Для вивчення стану законсервованої крові протягом всього періоду зберігання (30 днів), її розливали в стерильні флакони об'ємом 20 мл, поміщали в холодильну камеру (температура + 4 °С). Таким чином, було сформовано контрольну та дослідну групи - по 35 зразків крові в кожній.

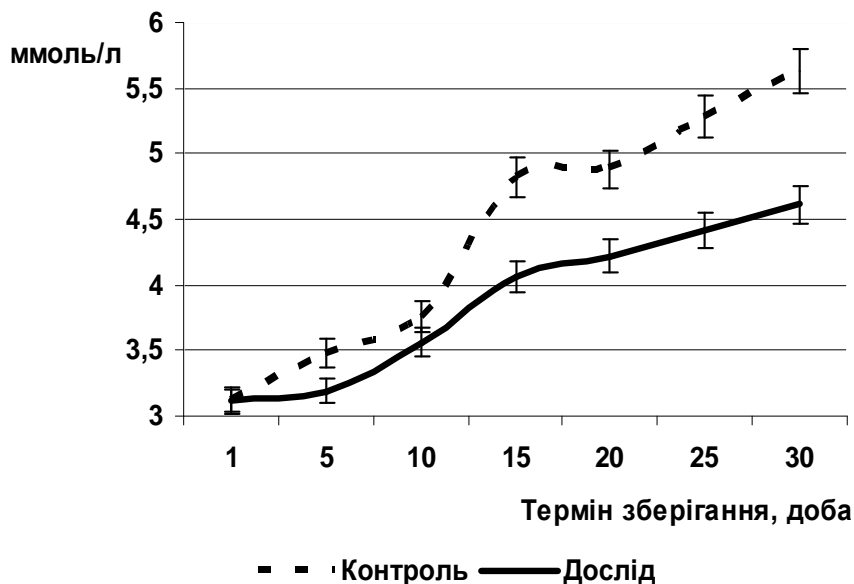
Концентрацію катіонів калію та натрію визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі ААС-30. Величину рН у дослідному кровоконсервуючому розчині вимірювали іономіром И-130. Кількість еритроцитів підраховували у камері Горяєва за стандартною методикою [3].

Цифрові дані результатів досліджень оброблені методами варіаційної статистики з використанням комп'ютерних програм.

Всі дослідження проводили з дотриманням загальних принципів гуманного поводження з піддослідними тваринами, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (м. Київ, 2001 р.).

**Результати досліджень.** Проведені дослідження показали зростання вмісту катіонів калію як у дослідних, так і контрольних зразках упродовж всього періоду зберігання. Аналіз динаміки цих змін свідчить про більшу їх стабільність саме у дослідних зразках консервованої донорської крові тварин порівняно з контрольними, де вони значно інтенсивніші (рис. 1). Так, у день

відбору крові концентрація катіонів калію в плазмі дослідних зразків крові становила 3,11 ммоль/л, що майже не відрізняється від контролю - 3,12 ммоль/л.

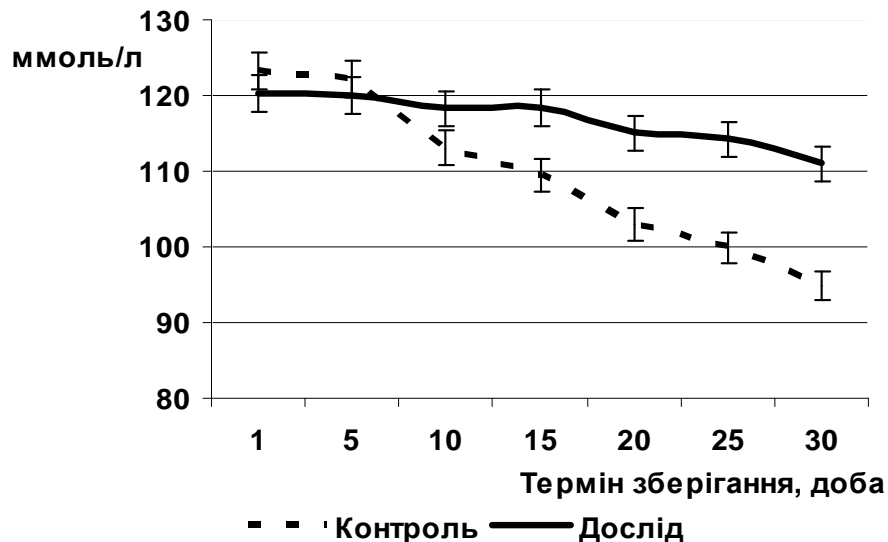


**Рис. 1. Зміна концентрації катіонів калію досліджуваних зразків консервованої крові бичків**

На десяту добу зберігання зростання концентрації катіонів калію як у дослідній, так і в контрольній групах зразків крові було майже однаковим. Суттєві зміни спостерігали на п'ятнадцяту добу зберігання, зокрема у дослідній групі концентрація катіонів калію зросла в 1,3 раза, у контрольній – 1,5 раза, що становило відповідно 4,06 та 4,82 ммоль/л. На тридцяту добу зберігання середній вміст катіонів калію у дослідній групі становив 4,61 ммоль/л, а в контрольній 5,63 ммоль/л, що у 1,4 і 1,8 раза більше порівняно з вихідними даними. Важливим є те, що концентрація катіонів калію у дослідних зразках упродовж всього періоду зберігання не перевищувала фізіологічно допустимих меж (3,05-4,74 ммоль/л) порівняно з контролем.

На відміну від калію, зміна концентрації катіонів натрію мала протилежний характер - кількість їх в плазмі поступово зменшувалась (рис. 2). У день відбору крові в плазмі дослідних зразків вона становила 120,2 ммоль/л, а

контрольних - 123,2 ммоль/л. Перших п'ять днів зберігання крові піддослідних груп характеризувалися відносно стабільною концентрацією катіонів натрію, яка фактично у дослідних зразках не змінювалась до п'ятнадцятої доби.

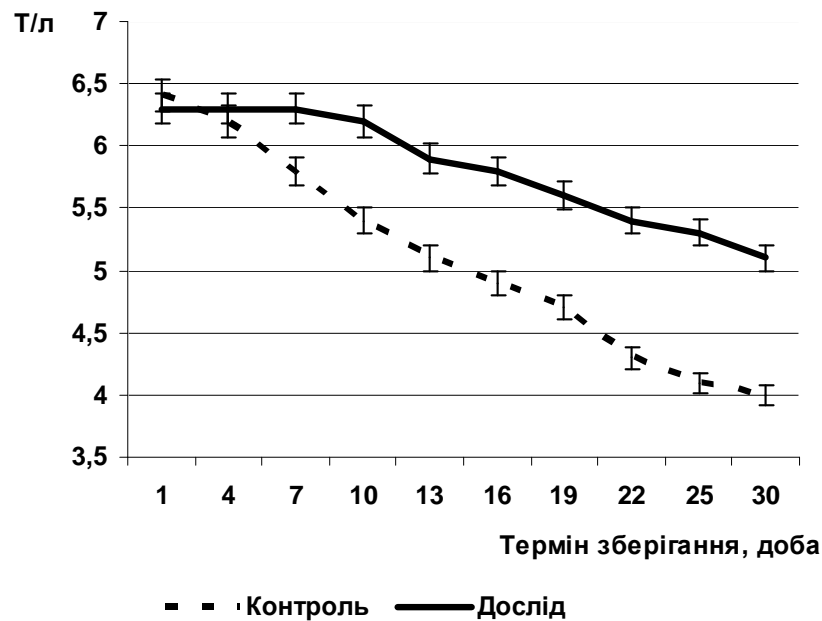


**Рис. 2. Зміна концентрації катіонів натрію досліджуваних зразків консервованої крові бичків**

У плазмі контрольної групи зразків консервованої крові зниження вмісту катіонів натрію було відзначено на десятю добу зберігання (113,1 ммоль/л) і динамічно тривало упродовж всього періоду досліджень. На тридцяту добу зберігання концентрація катіонів натрію порівняно з вихідними даними знизилась лише у 1,1 раза і становила 111,0 ммоль/л. У контрольній групі рівень катіонів натрію знизився у 1,3 раза і становив 94,8 ммоль/л.

Збереженість еритроцитів у дослідних та контрольних зразках консервованої донорської крові тварин упродовж 30 днів зберігання зазнавала значних змін (рис. 3). У перший день спостережень середні показники в дослідній та контрольній групах крові були майже однаковими 6,3 та 6,4 Т/л. У наступні дні кількість еритроцитів знижувалась, але з різною інтенсивністю. Так, на десятю добу зберігання в дослідній та контрольній

групах вона становила 6,1 та 5,4 Т/л, що порівняно з вихідними даними менше відповідно на 3,2 % і 15,6 %.



**Рис. 3. Зміна кількості еритроцитів досліджуваних зразків консервованої крові бичків**

Мінімальну кількість еритроцитів як у дослідній, так і контрольній групах було зафіксовано на тридцять добу зберігання. Зокрема, кількість еритроцитів у дослідних зразках консервованої крові зменшилась на 19,1 % і становила 5,1 Т/л, тоді як у контрольній групі відповідно - 37,5 % 4,0 Т/л порівняно з вихідними даними.

Порівняння результатів дослідження зміни концентрації катіонів калію та натрію з динамікою змін кількості еритроцитів консервованої донорської крові, показують значну залежність її якісних характеристик від складу гемоконсервантів, які використовувались у досліді. Це може вказувати на те, що саме комбінована дія натрію бікарбонату та вуглекислого газу, які входять до складу дослідного кровоконсервуючого середовища, сприяла більшій функціональній стабільності клітинних мембран та зумовила кращу збереженість еритроцитів, порівняно з контролем.

## Висновки:

1. Використання кровоконсерванту з натрію бікарбонатом та вуглекислим газом дозволяє пролонгувати стабільність концентрації катіонів калію та натрію у плазмі консервованої крові від трьох до п'яти діб порівняно із контролем.

2. Консервування крові тварин з використанням факторів штучного вуглекислотного гіпобіозу протягом тридцяти діб забезпечує на 27,5 % кращу збереженість еритроцитів, порівняно з стандартним глюкозо-цитратним середовищем.

## Список літератури

1. Арнаута О.В. Вплив високих концентрацій вуглекислоти на рівень енергетичного обміну в клітинах консервованої крові тварин /О.В. Арнаута// Ветеринарна медицина України. – 2004. -№1. – С. 27 – 28.
2. Торможение жизнедеятельности клеток / [Бекер М.Е., Рапопорт А.И., Калапуцкий Л.В. и др.] – Рига: Зинатне, 1987. – С. 134 – 137.
3. Васильева Е.А. Клиническая биохимия сельськoхoзяйственных животных / Е.А. Васильева. – 1982. – С. 244 – 245.
4. Гулевский А.К. Влияние низкотемпературного воздействия на проницаемость мембран эритроцитов, реконструированных в средах различного ионного состава / А.К.Гулевский // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1981. – № 5 – С. 551–553.
5. Гулый М.Ф., Мельничук Д.О. Значение углекислоты в обмене веществ у животных / М.Ф. Гулый, Д.О. Мельничук // Укр. биохим. журн. – 1973. Т. 45, №3. – С. 489 – 510.
6. Кропачёв Е.И., Ташкинов В.И., Костецкий А.А. Содержание калия и кальция в консервированной крови доноров в зависимости от сроков её хранения / Е.И. Кропачёв, В.И. Ташкинов, А.А. Костецкий // Материалы XXIV научной сессии Хабаровского мед. ин-та, 1967. – С.114 – 115.

7. Мельничук Д.О. Вплив різних форм вуглекислоти та температури на розвиток стану штучного гіпобіозу сперміїв бугаїв / Д.О. Мельничук, С.Д. Мельничук, М.В. Маренець // Науковий вісник НАУ. – 2000. – №22. – С. 147 – 151.
8. Мельничук Д.О. Вплив різних форм вуглекислоти та температури на розвиток стану штучного гіпобіозу сперміїв бугаїв / Д.О. Мельничук, С.Д. Мельничук, М.В. Маренець // Науковий вісник НАУ: Зб. наук. праць. – К.: НАУ, 2000. – №22. – С. 147 – 151.
9. Мельничук С.Д. Гіперкапнія як фактор регуляції обміну речовин у тварин в стані природного та штучного гіпобіозу: автореф. дис. на здобуття наук ступеня канд. біол. наук. – К.: 1995. – 24 с.
10. Тибилова Н.Н. Метаболизм эритроцитов в процессе хранения и оптимизация методов консервирования: автореф. дис. на соискание уч. степени док. биол. наук. – М.: 1991. – 56 с.
11. Типовий технологічний регламент виготовлення розчину Глюгіцир для консервування донорської крові. 1997. – 44 с.

## **СОХРАННОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ И ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ КАЛИЯ И НАТРИЯ КРОВИ ЖИВОТНЫХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ЕЁ КОНСЕРВИРОВАНИЯ**

*А.В. Арнаута*

Представлены результаты исследований по изучению эффективности действия кровесохраняющей среды, в составе которой разные формы угольной кислоты ( $pCO_2$ ;  $HCO_3^-$ ), в сравнении со стандартным глюкозо-цитратным консервантом Глюгицир. Критериями оценки эффективности гемоконсервантов была сохранность эритроцитов, а также динамика концентрации ионов калия и натрия плазмы консервированной крови животных. Установлено, что в условиях комбинированного действия углекислого газа, бикарбонатов и низких



температур (2-4<sup>0</sup> C), сохранность эритроцитов значительно выше, чем в контроле. В опытных образцах консервированной крови сохраняется стабильность натрий-калиевого градиента. Консервирование бикарбонат-углекислотной средой обеспечивает лучшую сохранность донорской крови и продлевает срок её технологического использования.

**Ключевые слова:** гипобиоз, консервирование, кровь, сохранность эритроцитов, ионы, натрий, калий, углекислый газ, натрия бикарбонат.

## INTEGRITY OF ERYTHROCYTES AND DYNAMICS OF CHANGES OF POTASSIUM AND SODIUM IONS CONCENTRATION IN THE BLOOD OF ANIMALS DEPENDING ON METHOD OF ITS PRESERVATION

*O.V. Arnauta*

The paper presents the results of research into the effectiveness of the action of the medium (containing the different forms of carbon dioxide; pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) for preserving blood, compared with standard glucose-citrate preservative agent «Glugitsyr». Criteria for evaluating effectiveness of blood preservation were integrity of erythrocytes and dynamics of the concentration of potassium and sodium in blood plasma which had been taken from animals and then preserved. It was found that in terms of the combined action of carbon dioxide, bicarbonate, and low temperatures (2-4<sup>0</sup> C), the preservation of erythrocytes is significantly higher than in controls. In the test samples of preserved blood, it was also observed the stable sodium-potassium gradient. Preserving in the medium of bicarbonate and carbonic acid provides better preservation of blood and prolongs term of its industrial use.

**Key words:** *hipobiosis, preservation, blood, red corpuscles, ions, natrium, potassium, carbon dioxide, natrium bicarbonate.*