

## Модификация сахарозо-содержащего раствора для хранения печени

Д.В. ЧЕРКАШИНА<sup>1</sup>, О.А. СЕМЕНЧЕНКО<sup>1</sup>, Е.Н. ТКАЧЕВА<sup>1</sup>, А.Ю. СОМОВ<sup>1</sup>,  
А.С. ЛЕБЕДИНСКИЙ<sup>1</sup>, Б.ДЖ. ФУЛЛЕР<sup>2</sup>, А.Ю. ПЕТРЕНКО<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

<sup>2</sup>University Department of Surgery, Royal Free & UCL Medical School

### Modification of Sucrose-Based Solution for Liver Storage

D.V. CHERKASHINA<sup>1</sup>, O.A. SEMENCHENKO<sup>1</sup>, E.N. TKACHEVA<sup>1</sup>, A.YU. SOMOV<sup>1</sup>,  
A.S. LEBEDINSKY<sup>1</sup>, B.J. FULLER<sup>2</sup>, A.YU. PETRENKO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

<sup>2</sup>University Department of Surgery, Royal Free & UCL Medical School

Сегодня не вызывает сомнений актуальность поиска новых и усовершенствования существующих сред для безопасного гипотермического хранения (ГХ) изолированных органов. Нами был разработан сахарозо-содержащий раствор (ССР), эффективность применения которого была показана при долгосрочном ГХ изолированных гепатоцитов и целой печени. Вместе с тем возможность его внедрения в клиническую практику лимитирована наличием двух компонентов: 1 – бычий сывороточный альбумин (БСА), обеспечивающий необходимое онкотическое и осмотическое давление, а также связывающий токсические продукты и свободные жирные кислоты, но обладающий иммуногенностью и повышающий вероятность закупорки мелких капилляров печени на этапе перфузии; 2 – трис-НС1 буфер, поддерживающий постоянство рН при хранении, но обладающий, по мнению некоторых авторов, способностью стимулировать тромбообразование и цитотоксичностью.

Цель работы – оценка корректности полноценной замены в составе ССР альбумина на высокомолекулярный полиэтиленгликоль (ПЭГ-8000) и трис-НС1 буфера на общепринятый – фосфатный.

В работе использовали белых беспородных крыс-самок. После перфузии печени *in situ* ее изолировали и помещали в растворы хранения, в состав которых входили: 1 – трис-НС1+БСА; 2 – трис-НС1+ПЭГ-8000; 3 – фосфатный буфер+БСА; 4 – фосфатный буфер + ПЭГ-8000. Содержание БСА и/или ПЭГ-8000 составляло 1%. Трис-НС1 и фосфатный буфер были эквимоларны. Исследования проводили после 1 или 18 ч ГХ органа, а также последующей реперфузии в течение 60 мин при 37°C. Степень повреждения органа оценивали по базальному уровню и скорости накопления ТБК-активных продуктов, а энергетическое состояние – по содержанию АТФ.

Показано, что независимо от состава раствора хранения уже после 1 ч ГХ в печени повышается базальный уровень ТБК-активных продуктов без изменения скорости их накопления. При этом содержание АТФ остается достаточно высоким. Продление сроков ГХ печени во всех типах растворов до 18 ч практически не влияло на базальный уровень ТБК-активных продуктов, в то время как скорость их накопления увеличивалась при проведении тепловой реперфузии, хотя в ССР на основе фосфатного буфера, содержащего ПЭГ-8000, это повышение было менее выражено. Аналогичная картина наблюдалась при исследовании содержания АТФ: после 18 ч ГХ значения были ниже, чем после 1 ч, эта ситуация усугублялась в ходе реперфузии, однако в указанной группе показатель был достоверно выше, чем в остальных.

Таким образом, состав раствора хранения может быть успешно модифицирован путем замены альбумина на ПЭГ-8000, а трис-НС1 – на фосфатный буфер.

Nowadays the relevance of search for novel and advanced existing media for safe hypothermic storage (HS) of isolated organs is beyond doubt. We have designed a sucrose-based solution (SBS), which application efficiency was shown under long-term HS of isolated hepatocytes and the whole liver. However the possibility of its introduction into a clinical practice is limited by the presence of two components: 1 – bovine serum albumin (BSA), providing a necessary oncotic and osmotic pressure, as well as binding toxic products and free fat acids, but having an immunogenicity and increasing the probability of liver small capillary blocking at perfusion stage; 2 – tris-HCl buffer, maintaining pH constancy under storage, but, as some authors believe, capable to stimulate the clottage and cytotoxicity.

The research was aimed to estimate the correctness of integral replacement of albumin as a part of SBS for a high molecular polyethylene glycol (PEG-8000) and tris-HCl buffer for the standard phosphate one.

White breedless female rats were used in the research. After *in situ* perfusion the liver was isolated and placed into the storage solutions, with the composition as follows: 1 – tris-HCl + BSA; 2 – tris-HCl + PEG-8000; 3 – phosphate buffer + BSA; 4 – phosphate buffer + PEG-8000. Content of BSA and/or PEG-8000 was 1%. Tris-HCl and phosphate buffer were equimolar. Studies were performed after 1 or 18 hrs of organ HS, as well as following reperfusion for 60 min at 37°C. Organ damage extent was estimated by a basal level and accumulation rate of TBA-active products and energetic state by ATP content.

It was shown that independently on storage solution composition even 1 hr after HS there was an increase in basal level of TBA-active products in liver with no change in their accumulation rate. At the same time the ATP content remains quite a high. The prolongation of liver HS terms in all types of solutions up to 18 hrs does not practically affect a basal level of TBA-active products, meanwhile the rate of their accumulation increased during heat perfusion, although in the phosphate buffer-based SBS with PEG-8000 this increase was less manifested. The same picture was observed when studying the ATP content: after 18 hrs the HS values were lower than 1 hr later, this situation aggravated during reperfusion, but in the mentioned group this index was statistically and significantly higher than in the rest ones.

Thus, the composition of storage solution may be successfully modified by replacing albumin and tris-HCL for PEG-8000 and phosphate buffer, correspondingly.