

## Вплив окисного стресу на стан еритроцитів за умов гіпотермічного зберігання

К.М. Головіна, І.Ф. Коваленко, О.М. Боброва

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків*

## Influence of Oxidative Stress on Erythrocyte State at Hypothermic Storage

K.M. Holovina, I.F. Kovalenko, O.M. Bobrova

*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv*

Консервована донорська кров для трансфузії залежно від консервуючого розчину зберігається протягом 35 або 42 діб [G. Barshtein *et al.*, 2018]. У процесі гіпотермічного зберігання в еритроцитах відбуваються біохімічні і біофізичні процеси, які викликають метаболічні та структурні зміни еритроцитів, ремоделювання клітинної мембрани та композиції цитоплазми [A. Alshalani *et al.*, 2018]. Показник збереженості еритроцитів залежить від складу консервуючого розчину та протоколу обробки еритроцитів [A. D'Alessandro *et al.*, 2018]. Встановлено, що у процесі гіпотермічного зберігання низькі дози озону позитивно впливають на реологічні та електричні властивості крові [H. Baieth *et al.*, 2012]. Це може бути пов'язано з явищем перехресної адаптації: внаслідок дії одного виду стресу підвищується стійкість клітин до інших видів стресу.

Мета роботи – дослідження впливу окисного стресу, викликаного озоном, на осмотичну крихкість та розподілення за індексом сферичності еритроцитів людини і барана у процесі гіпотермічного зберігання.

Еритроцити людини та барана відмивали та озонували (120 мкг/мл). Контрольні та озоновані еритроцити ресуспендували розчином Олсвера або 5%-го маніту на фізіологічному розчині (1:1) та зберігали 2 місяці при 4°C. Осмотичну крихкість еритроцитів досліджували за рівнем їх гемолізу у гіпотонічних розчинах NaCl. За даними малокутового розсіювання визначали долю збережених клітин. На підставі фізико-математичної моделі гіпотонічного гемолізу у розчині непроникаючої речовини та експериментальних кривих осмотичної крихкості визначали щільність розподілу еритроцитів за індексом сферичності [O.I. Gordiyenko *et al.*, 2004].

Крива щільності розподілу як контрольних, так й озонованих еритроцитів барана за індексом сферичності має вузький гострий пік із максимумом 1,48, тобто для популяції еритроцитів барана характерні висока однорідність і низький індекс сферичності. Крива щільності розподілу контрольних еритроцитів людини за індексом сферичності має більш пологий пік із максимумом 1,75. Після 2-місячного гіпотермічного зберігання контрольних еритроцитів людини та барана у середовищі з манітолом спостерігаються зміна форми кривої щільності розподілення за індексом сферичності та її зміщення до діапазону більш високих індексів. Після зберігання озонованих еритроцитів людини у середовищі з манітолом виявлено дві популяції еритроцитів із максимумами щільності розподілення за індексами сферичності – 1,75 і 2,56. Зберігання у середовищі Олсвера контрольних й озонованих еритроцитів людини викликає зміщення піка розподілення до низьких індексів сферичності.

Таким чином, вплив озонування на стан еритроцитів за умов гіпотермічного зберігання залежить від консервуючого середовища.

Preserved donor blood for transfusion is usually stored for 35 or 42 days, depending on the preservative solution [Barshtein G. *et al.*, 2018]. During hypothermic storage, there are biochemical and biophysical processes resulting in metabolic and structural changes in erythrocytes, remodelling of the cellular membrane and cytoplasmic compositions [A. Alshalani *et al.*, 2018]. Significantly affect the integrity of erythrocytes, composition of preservative solution and the protocol for treatment of red blood cells [D'Alessandro A. *et al.*, 2018]. It has been found that low-dose ozone positively affects the rheological and electrical properties of blood during hypothermic storage [H. Baieth *et al.*, 2012]. Such results may be related to cross-adaptation phenomenon, when after the action of one type of stress (ozone), the resistance of cells to other types of stress (hypothermic storage) is increased.

The research aim was to study the effect of oxidative stress caused by ozone on osmotic fragility and distribution of the spherical index of human and ovine erythrocytes at hypothermic storage.

Human and ovine red blood cells were washed and ozonated (120 µg/ml). Then control and ozonized erythrocytes were resuspended with Olsver solution or 5% mannitol in saline (1:1) and stored for 2 months at 4°C. Osmotic fragility of erythrocytes was investigated by the level of erythrocyte hemolysis in hypotonic NaCl solutions. According to the data of small-angle scattering, the integrity of the stored cells was determined. Based on the physico-mathematical model of hypotonic hemolysis in the solution of non-penetrating substance from the experimental curves of osmotic fragility, the density of erythrocytes' distribution by the spherical index was determined [O.I. Gordiyenko *et al.*, 2004].

It was found that the curve of the density distribution of both control and ozonized ovine erythrocytes has a narrow acute peak with a maximum of 1.48, which suggests a high homogeneity of the erythrocytes population with a low spherical index. Peak of the curve of the distribution by the spherical index of control human erythrocytes is more sloping with a maximum of 1.75. Hypothermic storage of control human and ovine erythrocytes in a mannitol medium for 2 months leads to a change in the shape of the density distribution curve by the spherical index and displacement to a range of higher indices. After storage of ozonized human erythrocytes in mannitol medium, two populations of erythrocytes with maximums of distribution density by the spherical indices were 1.75 and 2.56. Storage in the Olsver medium, both control and ozonized human erythrocytes, resulting in distribution peak of low spherical indices.

Thus, the effect of ozonation on the state of erythrocytes during hypothermic storage depends on the composition of the preservative medium.

