

## КИСЛОТНО-ОСНОВНИЙ БАЛАНС КОНСЕРВОВАНОЇ КРОВІ ТВАРИН ЗА КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР ТА ПІДВИЩЕНОГО ВМІСТУ ВУГЛЕКИСЛОГО ГАЗУ

**О.В. Арнаута**, кандидат ветеринарних наук

Наведено результати експериментальної роботи з вивчення дії комбінованого впливу холодового фактора та підвищеного вмісту вуглекислого газу на деякі показники кислотно-основного балансу консервованої крові бичків. У плазмі дослідних і контрольних зразків консервованої крові визначили: рН, парціальний тиск кисню ( $pO_2$ ) та вуглекислого газу ( $pCO_2$ ), а також концентрацію бікарбонату ( $HCO_3^-$ ). Контрольні зразки зберігались у стандартному глюкозо-цитратному середовищі (гемоконсервант Глюгіцир), а дослідні консервувались бікарбонат-вуглекислотним розчином. Встановлено, що гіпотермія в поєднанні із гіперкапнією забезпечує сталість величини рН зразків консервованої крові дослідної групи, порівняно з контролем. Динамічне зростання  $pCO_2$  та  $pO_2$  як у дослідних, так і в контрольних зразках крові може бути пов'язане з прямою залежністю між спорідненістю  $O_2$  та  $CO_2$  до гемоглобіну. При стрімкому зростанні в консервованій крові концентрації  $O_2$  гемоглобін втрачає спорідненість до  $O_2$ , вміст якого за умов зберігання крові в ізольованих, герметично закритих флаконах буде динамічно збільшуватись.

**Ключові слова:** *консервація, кров, тварини, низька температура, вуглекислий газ, кисень, бікарбонат*

На життєдіяльність клітин організму, в тому числі і клітин крові, можуть впливати різні фактори, зокрема низькі температури (гіпотермія) та підвищений вміст вуглекислого газу (гіперкапнія). Нині є достатньо даних про вплив холодового чинника на функціонування біомембран та активність ензимів клітини [1-3, 9, 10]. Вуглекислота також суттєво впливає на обмінні процеси як організму в цілому, так і на окремі тканини та клітини. Значною мірою вивчено

її роль у підтримці кислотно-лужного гомеостазу [4, 6-8]. Зокрема, у теплокровних організмів значення рН біологічних рідин залежить від концентрації в них бікарбонатів та розчинного вуглекислого газу і виражається рівнянням Гендерсона - Хассельбаха:

$$pH=6,10+\lg\frac{HCO_3^-}{H_2CO_3}, (t - 37^{\circ} C)$$

Це рівняння показує, що на зміну рівня рН може впливати зниження або підвищення концентрації бікарбонату та вуглекислоти при вказаній температурі [5].

**Мета досліджень** - вивчити зміни показників кислотно-основного стану (рН,  $HCO_3^-$ ,  $pO_2$ ,  $pCO_2$ ) консервованої крові бичків за умов комбінованої дії низьких температур та високих концентрацій вуглекислого газу.

**Матеріали та методи досліджень.** Для досліджень брали зразки крові у 10-12 - місячних бичків. Для досліду відбирали клінічно здорових тварин за методом аналогів. Для вивчення дії впливу гіпотермії та гіперкапнії на показники кислотно-основного балансу сформували дослідні та контрольні групи зразків консервованої крові тварин.

Контрольні зразки крові консервували вітчизняним гемоконсервантом Глюгіцир, який є глюкозо - цитратним розчином [11]. Цей препарат використовується для зберігання консервованої донорської крові у співвідношенні 1 об'єм розчину: 4 об'єми крові, при температурі  $2-6^{\circ} C$ , протягом 21-ї доби. При формуванні дослідної групи зразків крові в пляшки з глюгіциром вносили натрію бікарбонат у концентрації 22 ммоль/л. Після приготування середовище, насичували вуглекислим газом до рН 7,4. Величина рН глюгіцира становить близько 5,0, а норма для крові бичків близько 7,4, тому, дослідне середовище було максимально наближене до природних фізіологічних параметрів. Відбір крові у пляшки об'ємом 250 мл з дослідним та контрольним середовищем здійснювали за допомогою спеціальних систем. Кров з пляшок розливали у флакони об'ємом 10 мл, які ставили на зберігання в холодильну камеру при температурі  $+ 4^{\circ} C$ . Кислотно-лужну рівновагу визначали на аналізаторі газів крові "Radelkis" (Угорщина).

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.** Встановлено, що у день відбору крові величина рН контрольних зразків у середньому становила 6,63, що на 11 % менше, ніж у дослідних – (7,36). Така різниця пояснюється складом досліджуваних гемоконсервантів. Вище значення рН крові у дослідних зразках, порівняно з контрольним, пов'язане з наявністю у складі консервуючого розчину  $\text{NaHCO}_3$ , забуференого  $\text{pCO}_2$  до значення 7,35 – 7,40. Накопичення вільних іонів водню відбувалося динамічно впродовж усього періоду досліджень як в дослідній, так і в контрольній групах зразків консервованої крові, але з різною інтенсивністю. Так, величина рН у зразках крові дослідної групи була значно стабільнішою порівняно з контролем. На 20-ту добу зберігання крові рівень рН у контрольних зразках знизився на 4,2 %, тоді як у дослідних – лише на 1 %. У наступні десять діб досліджень величина рН продовжувала знижуватися і у контролі становила 6,34, що на 12,9 % менше, ніж у дослідних зразках (рис. 1).

***Рис. 1. Зміна величини рН у консервованій крові бичків***

Підвищений парціальний тиск вуглекислого газу ( $p\text{CO}_2$ ) у контрольних зразках зростає впродовж всього періоду зберігання. Однак інтенсивніше цей процес проходить з 20-ї до 30-ї доби зберігання. У дослідних пробах крові збільшення  $p\text{CO}_2$  спостерігали на п'яту добу. У подальшому рівень  $p\text{CO}_2$  динамічно збільшувався і в кінці дослідження був на 64,4 % вищим, ніж у контролі (рис. 2).

***Рис. 2. Зміна величини  $p\text{CO}_2$  у консервованій крові бичків***

Рівень  $p\text{O}_2$  у консервованій крові упродовж тридцяти днів досліджень динамічно зростає, що зумовлено особливістю метаболізму в лейкоцитах та властивістю гемоглобіну втрачати спорідненість до кисню під впливом вуглекислого газу. У зразках крові контрольної групи в день відбору крові вміст кисню становив 39,4 мм рт.ст. У наступні дні досліджень він поступово зростає і в кінці терміну зберігання (30-та доба) дорівнював 71,9 мм рт. ст., що на 82,5 % більше, ніж на початку дослідження. Аналогічна тенденція встановлена і для дослідних зразків консервованої крові. Якщо в перші десять днів зберігання  $p\text{O}_2$  зріс лише на 8,2 %, то у наступні двадцять днів – на 67 % (рис. 3).

Згідно з отриманими результатами досліджень концентрація бікарбонатів у консервованій крові за період зберігання зменшувалась.

***Рис. 3. Зміна величини  $pO_2$  у консервованій крові бичків***

Зокрема, у дослідних зразках консервованої крові концентрація  $HCO_3^-$  в першу добу дослідження становила 40,8 ммоль/л, на 15-ту – 29,2 ммоль/л, а на 30-ту – 17,2 ммоль/л, що в 2,3 рази менше від вихідних даних. У контрольній групі в день відбору крові концентрація  $HCO_3^-$  була 21,6 ммоль/л, на 15-ту добу – 18,1 ммоль/л, а на 13-ту – 13,1 ммоль/л, що в 1,6 рази менше порівняно з вихідними даними. (рис.4).

***Рис. 4. Зміна концентрації  $HCO_3^-$  у консервованій крові бичків***

## Висновки

1. Встановлено, що гіпотермія в поєднанні із гіперкапнією забезпечує сталість величини рН зразків консервованої крові дослідної групи, порівняно з контролем.

2. Динамічне зростання рСО<sub>2</sub> та рО<sub>2</sub> як у дослідних, так і в контрольних зразках крові може бути пов'язано з прямою залежністю між спорідненістю О<sub>2</sub> та СО<sub>2</sub> до гемоглобіну. При стрімкому зростанні в консервованій крові концентрації СО<sub>2</sub> гемоглобін втрачає спорідненість до О<sub>2</sub>, вміст якого за умов зберігання крові в ізольованих, герметично закритих флаконах буде динамічно збільшуватись.

## Список літератури

1. Белоус А.М., Бондаренко В.А. Структурные изменения биологических мембран при охлаждении / А.М. Белоус, В.А. Бондаренко – К.: Наукова думка, 1982. – 254 с.

2. Грищенко В.И. Современные тенденции развития криобиологии и криомедицины / В.И. Грищенко // Криобиология, – 1985. – №1. – С. 3 – 5.

3 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.

4. Гулий М.Ф. Вуглекислий газ і життя / М.Ф. Гулий – К.: Знання, 1968. – 150 с.

5. Мельничук Д.А. О механизме изменений обмена веществ у человека и животных при нарушении кислотно-щелочного равновесия в организме / Д.А. Мельничук // Биохимия животных и человека. – 1983. – № 7. – С. 17– 23.

6. Мельничук Д.О. Метаболічна система кислотно-лужного гомеостазу в організмі людини та тварин / Д.О. Мельничук // Укр. біохім. журн. – 1989. – Т. 61, № 3. – С. 3 – 21.

7. Мельничук С.Д. Гіперкапнія як фактор регуляції обміну речовин у тварин у стані природного та штучного гіпобіозу : автореф. дис. на здобуття

наукового ступеня кандидата біологічних наук, спеціальність 03.00.04 – біохімія / С.Д. Мельничук – К.: 1995. – 24 с.

8. Мельничук С.Д., Роговський С.П., Мельничук Д.О. Особливості кислотно-лужної рівноваги та азотого обміну в організмі щурів за умов штучного гіпобіозу / С.Д. Мельничук, С.Г. Роговський, Д.О. Мельничук // Укр. біохім. журн. – 1995. – Т. 67, № 4. – С. 67-75.

9. Торможение жизнедеятельности клеток / [Бекер М.Е., Рапопорт А.М., Калакуцкий Л.В. и др.] – Рига: Зинатнэ, 1987. – 239 с.

10. Willis J.S., Ellory J.C., Becker J.H. Na-, K-pump and Na-, K-ATPase disparity of their temperature sensitivity / J.S. Willis, J.C. Ellory, J.H. Becker – Amer. J. Physiol. – 1999. – Vol. 235. № 5. – P. 159 – 167.

11. Типовий технологічний регламент виготовлення розчину Глюгіцир для консервування донорської крові. – 1997. – 44 с.

## **КИСЛОТНО-ОСНОВНОЙ БАЛАНС КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ ЖИВОТНЫХ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР И ПОВЫШЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА**

*А.В. Арнаута*

Приведены результаты экспериментальной работы по изучению действия комбинированного влияния температурного фактора и повышенного содержания углекислого газа на некоторые показатели кислотно-основного баланса консервированной крови бычков. В плазме опытных и контрольных образцов консервированной крови исследовались показатели: рН, парциальное давление кислорода ( $pO_2$ ), парциальное давление углекислого газа ( $pCO_2$ ), а также концентрация бикарбонатов ( $HCO_3^-$ ). Установлено, что гипотермия в сочетании с гиперкапнией обеспечивает стабильность рН образцов консервированной крови опытной группы, в сравнении с контролем. Динамический рост  $pCO_2$  и  $pO_2$  как в опытных, так и контрольных образцах крови может быть связан с прямой зависимостью между средством  $O_2$  и  $CO_2$  к гемоглобину. При стремительном росте в консервированной крови

концентрации  $\text{CO}_2$  гемоглобин теряет сродство к  $\text{O}_2$ , содержание которого в условиях сохранения крови в изолированных, герметически закрытых флаконах будет динамично расти.

**Ключевые слова:** *гипотермия, гиперкапния, консервирование, кровь, животные, углекислые газ, кислород, бикарбонат.*

## **ACID-BASE BALANCE INDICATORS OF ANIMAL PRESERVED BLOOD IN TERMS OF COMBINED ACTION OF LOW TEMPERATURES AND HIGHER CARBON DIOXIDE CONTENT**

*O. Arnauta*

In the article they are given the results of experimental work on the study of the combined effects of cold factor and elevated carbon dioxide content on some parameters of acid-base balance of preserved blood of bulls. In the plasma of experimental and control samples preserved blood parameters they were studied: pH, partial pressure of oxygen ( $\text{pO}_2$ ) and of carbon dioxide ( $\text{pCO}_2$ ) and the concentration of bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ). Control samples were kept in standard glucose-citrate medium (hemo-preservative Hlyuhitsyr) and research ones were preserved with bicarbonate-carbon dioxide solution. Found that hypothermia combined with hypercapnia provides a constant pH of preserved blood samples of the experimental group when compared to the control. The dynamic growth of  $\text{pCO}_2$  and  $\text{pO}_2$  in research and in control samples can be connected with a direct correlation between  $\text{O}_2$  and  $\text{CO}_2$  affinity to hemoglobin. In terms of rapid growth of  $\text{CO}_2$  concentration in preserved blood, hemoglobin loses affinity for  $\text{O}_2$ , content of which under conditions of blood storage in the isolated, sealed bottles will grow dynamically.

**Key words:** *conservation, blood, animal, low temperature, carbon dioxide, oxygen, bicarbonate.*