

4. Шиффман Ф.Д. Патолофізіологія крові / Ф.Д. Шиффман // М. : Бинум, 2014. – 448 с.
5. Діяльність закладів служби крові України у 2016 році: довідник/ П.М. Перехрестенко, А.С. Тимченко, О.І. Малигон – К.: ТОВ «Діа», 2017. – 76 с.
6. Рагимов А.А. Трансфузіологія / А.А. Рагимов – М. : Гэотар-Медиа, 2012. – 1184 с.
7. Замковий А.Д. Практика інфузійно-трансфузійної терапії при гострих крововтратах / А.Д. Замковий, С.В. Видиборець // Гематологія і переливання крові: міжвідомчий збірник. – К., 2015. – Вип. 38. – С. 150–159.

Надійшла 02.11.2017 року.

УДК 616.153.915: 611-018.51+611-013.68+615.387+615.38

ПОКАЗНИКИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ЯК ІНДИКАТОРИ СТАНУ ЕРИТРОЦИТІВ ПУПОВИННОЇ КРОВІ НА ЕТАПАХ ПРОЦЕСУ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ: ЗВ'ЯЗОК З ДЕЯКИМИ ІНДИВІДУАЛЬНИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ДОНОРА

М.Ю. Аношина, Т.О. Калиниченко

ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», Київ

Резюме. Мета. Визначити показники перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) у еритроцитарних компонентах пуповинної крові (ПК) на етапах процесу кріоконсервування та їх залежність від деяких індивідуальних характеристик донора, а саме: статі, групової АВ0 та резус-приналежності.

Матеріали і методи. В еритроцитарних компонентах ПК на етапах кріоконсервування спектрофотометричним методом вимірювали концентрацію продуктів ПОЛ, що дало змогу в одній пробі охарактеризувати одночасно весь спектр змін активності процесів пероксидації (за вмістом субстратів, первинних, вторинних та кінцевих молекулярних продуктів).

Результати. Встановлено наявність вірогідної різниці показників перекисного окислення як нейтральних ліпідів, так і фосфоліпідів на всіх етапах технологічного процесу кріоконсервування у групах зразків, що мають різну АВ0 групову приналежність. Найбільш стійкими до негативних факторів кріоконсервування за показниками ПОЛ є еритроцити АВ(IV) групи крові. Показано, що активність процесів перекисного окислення ліпідів в еритроцитарних компонентах ПК не залежить від статі та резус-приналежності донора.

Висновки. Результати дослідження ПОЛ у еритроцитарних компонентах ПК свідчать про існування певних зв'язків між окремими індивідуальними характери-

стиками фенотипу донора, до яких відноситься і АВО-групова приналежність крові, та збереженістю мембран еритроцитів при екстремальних впливах.

Ключові слова: перекисне окислення ліпідів, еритроцити, пуповинна кров, кріоконсервування, кріочутливість.

THE LIPID PEROXIDATION ACTIVITIES AS INDICATORS OF UMBILICAL CORD RED BLOOD CELL STATUS ON THE CRYOPRESERVATION PROCESS STAGES: COMMUNICATION WITH SOME INDIVIDUAL DONOR CHARACTERISTICS

M.Yu. Anoshyna, T.O. Kalynychenko

SI «Institute of Hematology and Transfusiology of NAMS of Ukraine», Kyiv

Resume. Aim. To determine the indices of the lipid peroxidation (LPO) in the umbilical cord red blood cell (UCRBC) components and their dependence on some individual donor characteristics, namely: sex, AB0 group and resuscitation.

Materials and methods. The LPO products concentration in the UCRBC components on the cryopreservation stages was measured spectrophotometrically for a simultaneous (in one sample) characterization of the full spectrum of the LPO processes (using quantitative studies of the substrates and the primary, secondary, and final molecular products).

Results. The peroxide oxidation indicator differences were established both in the case of neutral lipids and phospholipids on samples with different AB0 group affiliation at all stages of the technological cryopreservation process. According to the data, UCRBCs with AB (IV) were the most resistant to the cryopreservation negative factors. The donor's sex and rhesus belongings were not related to LPO's activities in the studied components.

Conclusions. The results of the LPO studies in the UCRBC components indicate that there are certain associations between some individual donor phenotypic characteristics (including AB0-group belonging) and the safety of the erythrocyte membranes at extreme exposures such as cryopreservation.

Key words: erythrocytes (red blood cells), umbilical cord blood, cryopreservation, lipid peroxidation, cryosensitivity

Вступ. Показники перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) є важливим елементом оцінки гомеостазу біологічного об'єкту, що на пряму має відношення і до клітинних компонентів крові. Висока чутливість методів дослідження всіх ланок процесу пероксидації (від субстратів до кінцевих продуктів) робить їх незамінними для моніторингу стану клітинних мембран. При тому, що збереженість клітинних компонентів є основою ефективності та безпеки застосування трансфузійного середовища.

Загальновідомо, що реакцією клітин на екстремальні впливи є активація процесів ПОЛ та порушення структури біологічних мембран зі

зниженням їх бар'єрних та функціональних властивостей. Так, існують дані про зниження осмотичної стійкості заморожених еритроцитів на фоні накопичення малонового діальдегіду (МДА) – проміжного продукту ПОЛ [1].

Раніше було показано, що у клітинних суспензіях під впливом негативних факторів кріоконсервування зростає інтенсивність процесів ПОЛ [2]. Встановлено кореляцію між посиленням активності процесів пероксидацій нейтральних ліпідів і фосфоліпідів та зниженням життєздатності клітин як на підготовчих до кріоконсервування етапах, так і в розморожених клітинних компонентах крові [3]. Від ступеня інтенсифікації зазначених процесів залежать подальші можливості відновлення клітин.

Структурна організація мембран еритроцитів практично не відрізняється від інших клітин. Це складний комплекс ліпідів, білків та вуглеводів. Ліпіди мембрани відіграють визначальну роль у забезпеченні сталої структури мембрани, вибіркості її проникності для різних субстратів та іонів, регулюють активність пов'язаних з мембраною ферментів, а також беруть участь у модифікації їх вторинної структури. Тому, стан мембрани, особливо ліпідного її компоненту, має велике значення для таких характеристик якості як міцність чи в'язкість, а також функції життєзабезпечення клітин [4].

На жаль, найбільшою проблемою при застосуванні відмитих еритроцитів є підвищений лізис при попаданні у кровоносне русло реципієнта. Інтенсивність цього процесу залежить від стійкості їх мембран. Таким чином, моніторинг показників ПОЛ у клітинних суспензіях еритроцитів та їх зв'язків з індивідуальними характеристиками донора дозволяє здійснити об'єктивний аналіз якості трансфузійного середовища та сприяє пошуку надійних критеріїв прогнозу та попередження надмірних втрат клітин при екстремальних впливах в процесі кріоконсервування.

Мета – визначити показники ПОЛ у еритроцитарних компонентах пуповинної крові (ПК) на етапах процесу кріоконсервування та їх залежність від деяких індивідуальних характеристик донора, а саме: статі, групової АВ0 та резус-приналежності.

Матеріали і методи дослідження. Заготівлю ПК проводили при фізіологічних умовах за умови завчасного отримання інформованої згоди вагітної. Еритроконцентрат (ЕК) отримували з цільної стабілізованої розчини ЦФДА-1 ПК з використанням методики прискореної седиментації еритроцитів [5], його використовували в якості контролю для відповідної групи зразків (К). Середовище для заморожування готували на плазмозамінюючому колоїдному розчині декстрину 40 (10%) «Реополіглюкін» (Юрія-Фарм, Україна), що містить 0,9% натрію хлориду. Як кріопротектор застосовували диметилсульфоксид (ДМСО, Sigma, США) у

кінцевій концентрації 10%. Після додавання кріоконсервуючого розчину еритроцитарну завись (ЕЗ, етап «а») розливали у кріопробірки і заморозували до температури мінус 196 °С шляхом швидкого занурення у рідку фазу азоту. Матеріал зберігали у кріопробірках об'ємом 14 мл (6-9 пробірок на 1 зразок) протягом від 1 до 5 місяців. Розморозували зразки ЕЗ на водяній бані при температурі (40 ± 2) °С. Видалення ДМСО проводили загальноприйнятим методом триразового центрифугування з використанням сольових розчинів з поступовим зниженням концентрації від гіпертонічної до ізотонічної. Після ресуспендування еритроцитів у 0,9% розчині NaCl отримували розморожену відмиту еритроцитарну масу (РВЕМ – етап «в»). Вміст продуктів ПОЛ досліджували на трьох етапах (К, «а» і «б») за спектрофотометричним методом І. А. Волчегорського зі співавт. у нашій модифікації [6], який дозволяє здійснювати диференційоване визначення переокислення ацилів у структурі фосфоліпідів (екстрагованих до ізопропанольної фази) і неетерифікованих інтермедіатів пероксидації жирних кислот нейтральних ліпідів (екстрагованих до гептанової фази). Метод вигідно відрізняється від інших тим, що в одній пробі характеризує одночасно весь спектр змін активності процесів пероксидації – за концентрацією субстратів, первинних, вторинних та кінцевих молекулярних продуктів ПОЛ. Оптичну щільність кожної фази вимірювали на спектрофотометрі Helios α (Англія) при довжині хвилі $(\lambda) = 220$ нм, що віддзеркалює концентрацію ізольованих подвійних зв'язків (ПЗ) в субстратах ПОЛ. Вміст дієнових кон'югатів (ДК) вимірювали при $\lambda = 232$ нм; трисєнових (ТК) – при $\lambda = 268$ нм, оксодієнових (ОДК) – при $\lambda = 278$ нм, кінцевих продуктів ПОЛ типу шифових основ (ШО) – при $\lambda = 400$ нм. Контролем були гептанова та ізопропанольна фази води. Показники ПОЛ надані в ($\bullet 10^{-9}$ Од) – після перерахунку на вміст еритроцитів у 1 мл суспензії клітин. Розподіл зразків за групами крові за системами АВ0 та резус здійснений за даними, наданими фахівцями групи імуногематології ДУ «ІГТ НАМН» (провідного наукового співробітника, канд. мед. наук, ст.н.с. Павлюк Р.П. та старшого наукового співробітника, канд. мед. наук Мироненко Г.А.). Окрім того, зразки розподіляли на 2 групи за статтю дитини. Статистичну обробку здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel XP.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що концентрація первинних, вторинних та кінцевих продуктів ПОЛ в еритроконцентраті ПК не залежить від статі та резус-приналежності новонароджених, але є деякі відмінності між донорським матеріалом в залежності від групової АВ0 –

приналежності. Так, при пероксидації нейтральних ліпідів виявлено різницю ($p < 0,01$) вмісту кінцевих продуктів типу ШО між зразками ЕЗ з А(II) групою крові $(0,012 \pm 0,002) \cdot 10^{-9}$ Од та В(III) $(0,021 \pm 0,004) \cdot 10^{-9}$ Од. При пероксидації фосфоліпідів було встановлено різницю показників, що характеризують вміст проміжних продуктів, а саме: ОДК – відповідно до групової приналежності $(0,292 \pm 0,026) \cdot 10^{-9}$ Од та $(0,444 \pm 0,057) \cdot 10^{-9}$ Од ($p < 0,01$), а також ТК – відповідно $(0,412 \pm 0,040) \cdot 10^{-9}$ Од та $(0,640 \pm 0,089) \cdot 10^{-9}$ Од ($p < 0,05$). Показано різницю в 1,9 рази ($p < 0,05$) вмісту ІПЗ у зразках АВ(IV) групи $((0,746 \pm 0,131) \cdot 10^{-9}$ Од) порівняно з 0(I) групою крові $((1,425 \pm 0,233) \cdot 10^{-9}$ Од). Рівень ДК у зразках ЕЗ В(III) групи крові $((0,555 \pm 0,080) \cdot 10^{-9}$ Од) в 1,7 рази ($p < 0,05$) перевищував значення, отримані у зразках АВ(IV) групи $((0,324 \pm 0,069) \cdot 10^{-9}$ Од).

На етапі підготовки еритроцитів ПК до заморожування в рідкому азоті додавання кріопротектора ДМСО у кінцевій концентрації 10% призводило до збільшення ($p < 0,001$) вмісту продуктів ПОЛ у порівнянні з контролем (К), яким був концентрат еритроцитів кожної з груп (табл. 1,2). При цьому на даному етапі не знайдено достовірної між групової (АВ0) різниці показників. Після розморожування у зразках РВЕМ ПК встановлено різноспрямовані зміни показників ПОЛ порівняно з такими до заморожування (на етапі «а»), що залежало від фази екстрагованих ліпідів (нейтральних або фосфоліпідів) та продукту ПОЛ. Так, у зразках РВЕМ від донорів чоловічої статі при пероксидації нейтральних ліпідів показано зниження в 1,6 рази ($p < 0,001$) концентрації ІПЗ та в 1,5 рази ($p < 0,05$) – ДК. Показники ТК і ОДК на етапі «в», порівняно з даними, отриманими на етапі «а», мають тенденцію ($p > 0,05$) до зниження. У зразках РВЕМ від донорів жіночої статі вміст ІПЗ, ДК, ТК і ОДК також не відрізняється ($p > 0,05$) від даних, отриманих в ЕЗ до заморожування. Незалежно від статі, в зразках РВЕМ всіх донорів відмічено тенденцію до підвищення рівня ШО.

При пероксидації фосфоліпідів у зразках РВЕМ I та II груп (розподіл за статтю) встановлено достовірне зменшення у порівнянні з показниками до заморожування концентрації ІПЗ, ДК, ТК, ОДК (у зразках від донорів – хлопчиків – відповідно в 1,6; 2,7; 2,2 і 2,1 рази, від донорів – дівчат – у 2,1; 2,9; 2,2 і 2,1). Напрямок зміни ШО є невірогідним (табл. 1). Порівняння показників ПОЛ у зразках ЕЗ зазначених груп на всіх етапах процесу кріоконсервування показало, що концентрація первинних, вторинних та кінцевих продуктів пероксидації як нейтральних ліпідів, так і фосфоліпідів не залежить від статі дитини.

Також, як до заморожування, так і після розморожування не встановлено достовірної різниці показників ПОЛ між зразками ЕЗ ПК з різною резус-приналежністю (III та IV групи зразків). Але відбувались вірогідні

Таблиця 1 – Показники перекисного окислення ліпідів у зразках еритроконцентрату ПК при заморожуванні до температури мінус 196°С під захистом ДМСО в кінцевій концентрації 10% залежно від статі та резус-приналежності дитини (M±m)

| Групи зразків | | Показники пероксидації нейтральних ліпідів, од. на 1·10 ⁻⁹ | | | | |
|---------------|---|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | | ІПЗ | ДК | ТК | ОДК | ШО |
| II | К | 1,096±0,129 | 0,736±0,086 | 0,195±0,024 | 0,225±0,029 | 0,014±0,001 |
| | а | 3,913±0,350 | 2,013±0,290 | 0,481±0,076 | 0,563±0,097 | 0,031±0,003 |
| | б | 2,434±0,246 ³ | 1,320±0,119 ¹ | 0,329±0,030 | 0,385±0,035 | 0,038±0,012 |
| III | К | 1,294±0,171 | 0,849±0,115 | 0,222±0,033 | 0,259±0,038 | 0,016±0,003 |
| | а | 4,423±0,547 | 1,923±0,162 | 0,452±0,043 | 0,532±0,060 | 0,034±0,005 |
| | б | 2,997±0,535 | 1,731±0,325 | 0,442±0,091 | 0,515±0,105 | 0,041±0,010 |
| VIII | К | 1,302±0,326 | 0,799±0,164 | 0,198±0,044 | 0,240±0,056 | 0,013±0,002 |
| | а | 3,938±0,737 | 2,564±0,946 | 0,604±0,252 | 0,798±0,356 | 0,029±0,005 |
| | б | 2,881±0,569 | 1,407±0,206 ¹ | 0,352±0,048 ³ | 0,399±0,061 ³ | 0,033±0,004 ³ |
| VIV | К | 1,144±0,108 | 0,771±0,076 | 0,206±0,021 | 0,236±0,026 | 0,015±0,001 |
| | а | 3,490±0,331 | 1,560±0,139 | 0,372±0,035 | 0,421±0,040 | 0,029±0,003 |
| | б | 2,673±0,274 | 1,519±0,159 | 0,383±0,043 | 0,450±0,050 | 0,040±0,010 |
| Групи зразків | | Показники пероксидації фосфоліпідів, од. на 1·10 ⁻⁹ | | | | |
| | | ІПЗ | ДК | ТК | ОДК | ШО |
| II | К | 1,236±0,143 | 0,436±0,039 | 0,444±0,034 | 0,313±0,023 | 0,072±0,007 |
| | а | 11,213±1,060 | 7,903±0,557 | 1,294±0,154 | 0,925±0,107 | 0,183±0,019 |
| | б | 6,978±0,910 ² | 2,915±0,533 ³ | 0,600±0,076 ³ | 0,445±0,048 ³ | 0,168±0,016 |
| III | К | 1,393±0,245 | 0,547±0,086 | 0,589±0,085 | 0,428±0,068 | 0,102±0,018 |
| | а | 14,169±2,146 | 9,221±1,055 | 1,469±0,171 | 1,041±0,130 | 0,220±0,040 |
| | б | 6,683±1,181 ² | 3,174±0,714 ³ | 0,658±0,088 ³ | 0,497±0,061 ³ | 0,229±0,045 |
| VIII | К | 1,177±0,208 | 0,405±0,044 | 0,410±0,046 | 0,289±0,031 | 0,077±0,011 |
| | а | 11,215±2,013 | 7,544±1,180 | 1,386±0,220 | 1,069±0,246 | 0,188±0,035 |
| | б | 8,455±2,022 | 4,150±1,311 ¹ | 0,769±0,177 ³ | 0,541±0,109 ³ | 0,177±0,026 |
| VIV | К | 1,308±0,143 | 0,487±0,046 | 0,508±0,043 | 0,363±0,033 | 0,083±0,009 |
| | а | 11,765±1,275 | 7,121±0,675 | 1,103±0,099 | 0,789±0,074 | 0,179±0,023 |
| | б | 6,706±0,792 ³ | 2,997±0,454 ³ | 0,613±0,062 ³ | 0,463±0,041 ³ | 0,190±0,022 |

Примітки: К – показники у концентраті еритроцитів відповідної групи зразків; а – показники в ЕЗ після додавання криоконсервуючого розчину; б – показники у РВЕМ; І група (n=52) – зразки еритроцитарних компонентів дитини чоловічої статі; ІІ група (n=28) – зразки еритроцитарних компонентів дитини жіночої статі; ІІІ група (n=11) – зразки еритроцитарних компонентів від резус-негативних (Rh⁻) донорів; ІV група (n=67) – зразки еритроцитарних компонентів від резус-позитивних (Rh⁺) донорів; ^{1, 2, 3} – вірогідна різниця показників до (а) та після (б) розморожування (відповідно p < 0,05; p < 0,01; p < 0,001).

зміни в процесі заморожування-відтаювання в середині груп. Так, при перекисному окисленні нейтральних ліпідів у Rh^- зразках РВЕМ відзначено зниження (порівняно з даними до заморожування) вмісту ДК в 1,8 рази ($p < 0,05$), ТК – в 1,7 та ОДК – у 2 рази ($p < 0,001$). Концентрація ШО зростала на 14%. У той же час у групі Rh^+ зразків достовірних відмінностей показників ПОЛ до та після розморожування не виявлено. Встановлена тенденція до зменшення у РВЕМ (відносно даних у ЕЗ до заморожування) вмісту ПЗ, ДК і підвищення ТК, ОДК і ШО. При пероксидації фосфоліпідів у зразках РВЕМ III групи (з Rh^- – фенотипом) виявлено зниження концентрації ДК в 1,8 рази ($p < 0,05$), ТК – в 1,8 і ОДК – у 2 рази ($p < 0,001$). Зменшення рівня ШО не було вірогідним ($p > 0,05$), як і його підвищення у групі з Rh^+ . У зразках РВЕМ останньої групи відзначено зниження ($p < 0,001$) концентрації ПЗ в 1,8 рази, ДК – у 2,4; ТК – у 1,8 та ОДК – у 1,7 рази (табл. 1).

Таким чином, результати дослідження свідчать, що інтенсивність ПОЛ у зразках еритроцитарних клітинних компонентів ПК, як індикатора стану мембран клітин за умови екстремального впливу факторів кріоконсервування, не залежить від статі та резус-приналежності донора.

У табл. 2 представлені дані щодо показників активності ПОЛ на етапах кріоконсервування у зразках еритроцитарних компонентів ПК, розподілених на групи крові за системою АВ0.

Встановлено, що додавання до ЕЗ кріопротектора ДМСО у кінцевій концентрації 10% призводило до вірогідного збільшення вмісту продуктів ПОЛ у порівнянні з контролем. Показники пероксидації нейтральних ліпідів в залежності від групової приналежності крові та продукту ПОЛ зростали в 1,1–4,5 рази. Найбільш істотно зростала концентрація продуктів перекисного окислення фосфоліпідів. Так, ПЗ збільшувалась у 8,7–11,5 разів, у той час, коли концентрація ДК піднімалась у 13,1–8,5 разів. Рівень ТК, ОДК та ШО зростав у 1,9 – 3,0 рази в залежності від групи крові.

Знайдено достовірну міжгрупову різницю показників на етапі «а». Так, при пероксидації нейтральних ліпідів вміст ШО у зразках ЕЗ В(III) групи крові перевищував такий в А(II) групі в 1,5 рази ($p < 0,05$), у зразках з АВ(IV) – в 1,75 рази був знижений ($p < 0,05$) у порівнянні з 0(I) групою та у 2 рази ($p < 0,001$) – із зразками В(III) групи. Достовірно ($p < 0,01$) в 1,2 рази відрізнявся рівень ДК у зразках ЕЗ АВ(IV) і В(III) груп. При перекисному окисленні фосфоліпідів на етапі додавання кріопротектора до ЕЗ рівень ДК у III групі, порівняно з II, перевищував у 1,4 рази ($p < 0,05$) (в 1,9 рази, $p < 0,01$), ОДК (у 1,9 рази, $p < 0,01$). У зразках А(II) рівень ДК

Таблиця 2 – Показники ПОЛ у зразках еритроцитарних компонентів ПК на етапах процесу кріоконсервування залежно від групи крові дитини за системою АВ0 (M±m)

| Групи зразків | | Показники пероксидації нейтральних ліпідів, од. на 1·10 ⁻⁹ | | | | |
|---------------|---|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | ІПЗ | ДК | ТК | ОДК | ШО |
| II | К | 1,164±0,173 | 0,762±0,109 | 0,206±0,032 | 0,224±0,035 | 0,016±0,002 |
| | a | 4,673±0,603 ³ | 2,373±0,420 ³ | 0,575±0,109 ² | 0,674±0,145 ² | 0,035±0,005 ³ |
| | b | 2,135±0,255 ^{2,6} | 1,261±0,144 ^{2,4} | 0,324±0,038 ^{1,4} | 0,373±0,044 ^{2,4} | 0,027±0,003 ² |
| III | К | 1,076±0,129 | 0,713±0,087 | 0,186±0,024 | 0,213±0,029 | 0,012±0,002 |
| | a | 3,439±0,270 ³ | 1,538±0,173 ³ | 0,357±0,049 ² | 0,427±0,067 ² | 0,027±0,003 ³ |
| | b | 3,284±0,466 ³ | 1,613±0,208 ³ | 0,395±0,049 ³ | 0,468±0,065 ³ | 0,059±0,025 ³ |
| III V | К | 1,429±0,259 | 0,954±0,166 | 0,247±0,043 | 0,294±0,057 | 0,021±0,004 |
| | a | 4,429±0,629 ³ | 1,966±0,221 ³ | 0,449±0,053 ³ | 0,546±0,085 ³ | 0,040±0,005 ³ |
| | b | 3,181±0,947 ² | 1,953±0,609 ³ | 0,498±0,175 ³ | 0,575±0,195 ³ | 0,042±0,019 ³ |
| VIV | К | 0,817±0,110 | 0,545±0,075 | 0,152±0,022 | 0,166±0,023 | 0,008±0,001 |
| | a | 3,674±0,669 ³ | 2,172±0,528 ³ | 0,551±0,134 ³ | 0,574±0,129 ³ | 0,020±0,004 ³ |
| | b | 1,345±0,099 ^{3,6} | 0,780±0,053 ^{3,6} | 0,196±0,015 ^{3,6} | 0,251±0,019 ^{3,6} | 0,021±0,003 ^{3,6} |
| Групи зразків | | Показники пероксидації фосфоліпідів, од. на 1·10 ⁻⁹ | | | | |
| | | ІПЗ | ДК | ТК | ОДК | ШО |
| II | К | 1,425±0,233 | 0,519±0,083 | 0,535±0,075 | 0,390±0,061 | 0,086±0,014 |
| | a | 12,448±1,859 ³ | 9,171±1,004 ³ | 1,596±0,269 ³ | 1,150±0,192 ³ | 0,217±0,041 ² |
| | b | 5,664±0,867 ^{3,5} | 2,327±0,536 ^{3,6} | 0,554±0,085 ⁶ | 0,411±0,053 ⁶ | 0,158±0,020 ² |
| III | К | 1,176±0,152 | 0,427±0,039 | 0,412±0,040 | 0,292±0,026 | 0,076±0,011 |
| | a | 11,751±1,607 ³ | 7,626±0,679 ³ | 1,130±0,095 ³ | 0,802±0,064 ³ | 0,194±0,023 ³ |
| | b | 10,195±1,822 ³ | 4,289±1,014 ^{3,5} | 0,763±0,129 ^{3,4} | 0,562±0,083 ^{3,4} | 0,220±0,030 ³ |
| III V | К | 1,489±0,411 | 0,555±0,080 | 0,640±0,089 | 0,444±0,057 | 0,106±0,027 |
| | a | 15,218±2,647 ³ | 10,263±1,031 ³ | 1,466±0,198 ³ | 1,048±0,138 ³ | 0,199±0,028 ³ |
| | b | 5,245±0,849 ^{3,5} | 3,422±0,995 ^{3,6} | 0,685±0,134 ⁶ | 0,521±0,095 ^{2,6} | 0,226±0,081 ^{3,4} |
| V IV | К | 0,746±0,071 | 0,324±0,036 | 0,375±0,010 | 0,261±0,036 | 0,061±0,010 |
| | a | 8,561±1,690 ³ | 4,230±0,540 ³ | 0,859±0,083 ³ | 0,600±0,066 ³ | 0,119±0,030 ³ |
| | b | 3,766±1,013 ^{3,5} | 0,755±0,095 ^{3,6} | 0,322±0,046 ^{3,6} | 0,251±0,031 ⁶ | 0,145±0,022 ^{3,6} |

Примітки: К – показники у концентраті еритроцитів відповідної групи зразків тів; а – показники в ЕЗ після додавання кріоконсервуючого розчину; b – показники у РВЕМ; I група (n=32) – зразки еритроцитарних компонентів 0(I) групи крові; II група (n=24) – зразки еритроцитарних компонентів А(II) групи крові; III група (n=14) – зразки еритроцитарних компонентів В(III) групи крові; IV група (n=11) – зразки еритроцитарних компонентів АВ(IV) групи крові; ^{1, 2, 3} – вірогідна різниця показників до (а) та після(б) розморожування у порівнянні з групою К (відповідно p < 0,05; p < 0,01; p < 0,001); ^{4, 5, 6} – вірогідна різниця показників до (а) та після(б) розморожування (відповідно p < 0,05; p < 0,01; p < 0,001).

перевищував такий АВ(IV) групи в 1,8 рази ($p < 0,001$), тоді як показники Встановлено перевищення вмісту у зразках 0(I) групи крові відносно АВ(IV) на етапі «а» наступних показників: ДК (у 2,2 рази, $p < 0,001$), ТК, ОДК – в 1,3 ($p < 0,05$) і ШО – в 1,6 рази ($p < 0,05$). Дані зразків В(III) групи на етапі «а» також були вищими за аналогічні у АВ(IV): ДК – у 2,4 рази, ТК, ОДК і ШО – в 1,7 рази ($p < 0,001$).

Після розморожування найнижчий вміст продуктів ПОЛ (етап «б») також був відмічений у зразках ЕЗ з АВ(IV) групою крові. Наприклад, при перекисному окисленні нейтральних ліпідів у РВЕМ рівень ІПЗ зразків з АВ(IV) групою крові був нижчим у 1,6 рази ($p < 0,01$) порівняно зі зразками 0(I) – приналежності та у 2,4 рази ($p < 0,001$) – відносно зразків А(II) та В(III) груп крові. Але цей показник у зразках з А(II) групою перевищував його у 1,5 рази ($p < 0,05$). Також нижчою, порівняно зі зразками інших груп крові (0(I), А(II) і В(III)), виявились і концентрації: ДК – відповідно в 1,6 ($p < 0,01$), у 2,1 та у 2,5 рази ($p < 0,001$); ТК – відповідно в 1,6 ($p < 0,01$); у 2,0 та у 2,5 рази ($p < 0,001$); ОДК – відповідно в 1,5 ($p < 0,05$); у 1,9 ($p < 0,01$) та у 2,3 рази ($p < 0,001$). Вміст ШО був нижчим у 2 рази ($p < 0,001$) порівняно тільки зі зразками В(III) групи крові.

При пероксидації фосфоліпідів відносно зразків 0(I) встановлено перевищення в 1,8 рази ($p < 0,05$) рівня ІПЗ у РВЕМ А(II) групи крові та його нижчий рівень у зразках В(III) групи (у 1,9 рази, $p < 0,05$). Цей показник був також нижчим у зразках з АВ(IV) групою у порівнянні зі зразками А(II) групи крові у 2,7 рази ($p < 0,01$). Вміст ДК у РВЕМ АВ(IV) групи був меншим порівняно зі зразками 0(I), А(II) та В(III) груп крові відповідно у 3,1 рази ($p < 0,01$), у 5,6 разів та у 4,5 рази ($p < 0,001$). У зразках АВ(IV) групи спостерігались значно менші рівні таких показників як ТК відповідно групам: 0(I) – в 1,7 рази ($p < 0,05$), А(II) – у 2,4 ($p < 0,01$) та В(III) – у 2,1 рази ($p < 0,001$); ОДК – відповідно в 1,6 ($p < 0,01$); 2,2 та 2,1 рази ($p < 0,001$). Концентрація ШО була меншою у порівнянні з РВЕМ як А(II) групи крові (в 1,5 рази ($p < 0,05$)), так і В(III) групи (в 1,6 рази ($p < 0,001$)). Також при перекисному окисненні як нейтральних ліпідів, так і фосфоліпідів встановлено вірогідне зниження у розморожених зразках 0(I) та АВ(IV) групи крові у порівнянні з даними до заморожування (етап «а») вмісту ІПЗ, ДК, ТК і ОДК. Концентрація ШО достовірно зростала у РВЕМ АВ(IV) групи крові, а також у розморожених зразках В(III) групи. В останніх збільшення відбувалось тільки при пероксидації фосфоліпідів (табл. 2).

Таким чином, результати дослідження ПОЛ свідчать, що найменш чутливими до негативних чинників кріоконсервування є еритроцити АВ(IV) групи крові. Показники перекисного окислення нейтральних ліпідів та фосфоліпідів у

РВЕМ цієї групи є вірогідно нижчими порівняно з усіма іншими групами зразків при розподілі за АВ0 груповою приналежністю.

Причинно-наслідкові зв'язки порушення функції мембрани еритроцита необхідно розглядати з точки зору комплексного аналізу. Окрім бар'єрної та транспортної функції мембрана еритроцита виконує також і рецепторну, що пов'язана з численними ланками обміну речовин, миттєвими клітинними реакціями загального та високо специфічного характеру, в тому числі і тих, що визначають резистентність клітин до зовнішніх впливів [7]. Рецепторна функція еритроцита здійснюється у тому числі і за рахунок структур, що є одночасно антигенами видової, групової та індивідуальної специфічності. Тому, генетичний поліморфізм антигенів груп крові, взаємозв'язки біологічних властивостей та структурно-функціональних характеристик, їх можливий вплив на стійкість до зовнішніх чинників дає підстави для пошуку зв'язків з резистентністю або, навпаки, чутливістю до дії фізико-хімічних факторів в процесі заморожування-відтаювання.

Висновки

Встановлено наявність вірогідної різниці показників перекисного окислення як нейтральних ліпідів, так і фосфоліпідів на всіх етапах технологічного процесу кріоконсервування у групах зразків, що мають різну АВ0 групову приналежність. Найбільш стійкими до негативних факторів кріоконсервування за показниками ПОЛ є еритроцити АВ(IV) групи крові. Показано, що активність процесів перекисного окислення ліпідів в суспензіях еритроцитів ПК не залежить від статі та резус-приналежності донора.

Отже, результати дослідження ПОЛ у еритроцитарних компонентах ПК свідчать про існування певних зв'язків між окремими індивідуальними характеристиками фенотипу донора, до яких відноситься і АВ0-групову приналежність крові, та збереженістю мембран еритроцитів при екстремальних впливах.

Література

1. Свойства эритроцитов, замороженных в среде с декстраном, диметилсульфоксидом и глюкозой / В.В. Рамазанов, Е.Л. Воловельская, В.А. Коптелов, В.А. Бондаренко // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 3, Т.1, № 94. – С. 241–245.
2. Аношина М.Ю. Характеристика процесів перекисного окислення ліпідів у зразках пуповинної крові на етапах кріоконсервування / М.Ю. Аношина, Т.О. Калиниченко // Гематологія і переливання крові: міжвідомчий збірник. – Київ, «Атіка – Н», 2010. – Вип. 35. – С. 139–147.

3. Окисний гомеостаз та збереженість гемопоетичної тканини пуповинної крові на етапах процесу кріоконсервування трансплантаційного матеріалу / Т.О. Калиниченко, М.Ю. Аношина, В.В. Балан [та ін.] // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. – К., 2012. – Вип. 21, книга 3. – С. 111–116.

4. Чеснокова Н.П. Лекция 2. Особенности структуры и функции эритроцитарной мембраны / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 1–2. – С. 328–331.

5. Патент на корисну модель № 21507 UA A01N1/00, 1/02, АК35/14 Спосіб підготовки ядровмісних клітин пуповинної крові до кріоконсервування / П.М. Перехрестенко, Г.Т. Глухенька, Т.О. Калиниченко. – № 2006 10727; заявл. 10.10.2006; опубл. 15.03.2007. // Бюл. № 3.

6. Аношина М.Ю. Оцінка перекисного окислення ліпідів у зразках кріоконсервованої пуповинної крові / М.Ю. Аношина, Т.О. Калиниченко, Г.Т. Глухенька // Український журнал гематології та трансфузіології. – 2011. – № 3. – С. 12–15.

7. Red Blood Cell Polymorphism and Susceptibility to Plasmodium vivax / P.A. Zimmerman, M. U. Ferreira, R. E. Howes, O. Mercereau-Puijalon // Adv Parasitol. Author manuscript; available in PMC 2013 Jul 31. – <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3728992/>

Надійшла 25.09.2017 року.

УДК 616.155.392.2 – 036.12-085

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ІМУННИХ УСКЛАДНЕНЬ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ЛІМФОЦИТАРНУ ЛЕЙКЕМІЮ

О.Я. Виговська

*ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини
НАМН України», Львів*

Резюме. Хронічна лімфоцитарна лейкемія (ХЛЛ) може ускладнюватись імунними цитопеніями. Серед обстежених нами 34 хворих на ХЛЛ, найчастішою формою цитопенії була автоімунна гемолітична анемія (АГА) (22 хворих), рідше спостерігалась імунна тромбоцитопенія (ТТП) (6 хворих) та синдром Фішер-Івенса (4 хворих). У однієї хворої виявили парціальну червоноклітинну аплазію (ПЧА), і ще у однієї хворої, імунну нейтропенію (ІН). Автоімунна гемолітична анемія у 2 хворих розвинулась під час лікування лейкераном, у 2 пацієнтів після курсу СОР (циклофосфан, вінкристин, преднізолон) і у одного хворого після курсу ФС (флударабін, циклофосфан). Синдром Фішер-Івенса у одного хворого розвинувся під час лікування лейкераном. Із прогно-