

Исследование метаболитов энергетического обмена в клетках костного мозга собак после криоконсервирования

Л.А. ВОДОПЬЯНОВА, Г.Ф. ЖЕГУНОВ

Харьковская государственная зооветеринарная академия

Investigation of Metabolites of Energy Metabolism in Canine Bone Marrow Cells After Cryopreservation

L.A. VODOPYANOVA, G.F. ZHEGUNOV

Kharkov Zooveterinary Institute, Ukraine

Использование клеток костного мозга (ККМ) в лечении нарушений гемопоэза является перспективным способом терапии домашних животных. Однако при хранении *in vitro* в ККМ истощаются запасы энергетических субстратов: гликогена, глюкозы, в то же время накапливаются метаболиты, например молочная кислота, играющие негативную роль в жизнедеятельности и функционировании клеток. Низкотемпературное консервирование ККМ под защитой криопротекторов решает проблему хранения биоматериала до трансплантации, однако процессы образования и использования энергии в ККМ после криовоздействия мало изучены.

Замораживание проводили с криопротекторами, обеспечивающими лучшую сохранность ККМ собак при замораживании: диметилсульфоксид (ДМСО в концентрации 7 и 10%) и полиэтиленоксид-400 (ПЭО-400 в концентрации 10 и 15%). Для характеристики интенсивности энергетического обмена после замораживания-отогрева ККМ собак под защитой криопротекторов использовали определение концентраций ряда метаболитов: глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф), АТФ, пирувата (ПВК) и лактата.

Проведенные исследования показали, что после экспозиции и замораживания-отогрева ККМ собак в криозащитных средах, содержащих ДМСО и ПЭО-400, уровень АТФ несколько снижается, при этом наблюдается повышение уровня Г-6-Ф в ККМ собак в сравнении с данным показателем в контроле, что, вероятно, отражает повышение затрат энергии и рост функциональной активности ККМ собак после замораживания-отогрева.

После криоконсервирования в ККМ собак в присутствии указанных криопротекторов уровень ПВК повышается относительно контроля, что, видимо, связано с интенсификацией обменных процессов. При этом уровень молочной кислоты в ККМ собак хотя и повышается в сравнении с показателями контроля, но такое повышение незначительно отличается от показателей в ККМ после экспозиции (30 мин) с криопротекторами до замораживания.

Таким образом, исследование метаболитов энергетического обмена в деконсервированных ККМ собак свидетельствует о сохранении энергетического обмена на уровне, близком к контролю.

Application of bone marrow cells (BMC) in treatment of hemopoiesis damages is the perspective therapy method of domestic animals. However during storage *in vitro* in BMC the stocks of energetic substances exhaust: glucose, glycogen, at the same time metabolites are accumulated, for example, lactic acid, playing a negative role in cell action and function. Low temperature storage of BMC under protection of cryoprotectants solves a problem of biomaterial storage before transplantation, however formation and application of energy in BMC after cryoexposure have been studied slightly.

Freezing was carried out with cryoprotectants providing the highest integrity of canine BMC at freezing: dimethylsulfoxide (7 and 10% DMSO) and 400 polyethylene oxide (10 and 15% PEO-400). For characteristic of intensity of energy metabolism after freeze-thawing of canine BMC under protection of cryoprotectants we applied the determination of metabolite series concentrations: glucose-6-phosphate (G-6-P), ATP, pyruvate (PVA) and lactate.

The carried out researches have shown, that after exposure and freeze-thawing of canine BMC in cryoprotective media, containing DMSO and PEO-400, ATP level reduces a little, herewith the increasing of G-6-P level in canine BMC is observed, in comparison with this index in the control, that probably, indicates the increase of energy consumption and growth of functional activity of canine BMC after freeze-thawing.

After cryopreservation in canine BMC in presence of these cryoprotectants, PVA level increases in respect of the control that probably is associated with intensification of metabolic processes. Though at this the level of lactic acid in canine BMC increases in comparison with the control indices, but this increase is insignificantly different from the indices in BMC after exposure (30 min) with the cryoprotectants before freezing.

Thus, the metabolite research of energy metabolism in frozen-thawed canine BMC testifies to the preservation of energy metabolism at the level close to the control.