

ISSN 0233-7673

КРИОБИОЛОГИЯ

4|88



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

В. И. Грищенко (главный редактор), А. М. Белоус (зам. гл. редактора), Ю. П. Благой, Р. Г. Бутенко, Б. Н. Вепринцев, В. И. Гольданский, В. И. Луговой, Ф. И. Осташко, Е. Я. Панков, Л. А. Пирузян, Н. С. Пушкирь, Б. П. Сандомирский, А. С. Снурников, К. М. Сытник, А. М. Утевский, А. Г. Федотенков, А. А. Цуцаева, В. И. Шумаков, Т. Н. Юрченко

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

С. И. Аксенов (Москва), Н. Г. Бакрадзе (Тбилиси), М. Е. Бекер (Рига), П. В. Белошицкий (Киев), Д. М. Гродзинский (Киев), В. Н. Запорожан (Одесса), Л. В. Калакуцкий (Пушино, Моск. обл.), В. А. Наер (Одесса), В. А. Никитин (Харьков), Г. П. Пинаев (Ленинград), Г. Б. Сергеев (Москва), М. А. Соловьева (Киев), Н. Г. Соломонов (Якутск), Н. Н. Тимофеев (Москва), В. М. Чередниченко (Харьков), В. В. Шенталь (Москва), Э. З. Эмирбеков (Махачкала)

EDITORIAL BOARD

V. I. Grishchenko (Editor-in-Chief), A. M. Belous (Associated Editor), Yu. P. Blagoj, R. G. Butenko, B. N. Veprintsev, V. I. Goldansky, V. I. Lugovoj, F. I. Ostashko, E. Ya. Pankov, L. A. Piruzyan, N. S. Pushkar, B. P. Sandomirsky, A. S. Snurnikov, K. M. Sytnik, A. M. Utevsky, A. G. Fedotenko, A. A. Tsutsayeva, V. I. Shumakov, T. N. Yurchenko

EDITORIAL COUNCIL

S. I. Aksenow (Moscow), N. G. Bakradze (Tbilisi), M. E. Beker (Riga), P. V. Beloshitsky (Kiev), D. M. Grodzinsky (Kiev), V. N. Zaporozhan (Odessa), L. V. Kalakutsky (Pushchino, Moscow region), V. A. Naer (Odessa), V. A. Nikitin (Kharkov), G. P. Pinayev (Leningrad), G. B. Sergeyev (Moscow), M. A. Solovyeva (Kiev), N. G. Solomonov (Yakutsk), N. N. Timofeyev (Moscow), V. M. Cherednichenko (Kharkov), V. V. Shental (Moscow), E. Z. Emirbekov (Makhachkala)

Адрес редакции:
310015, Харьков, 15,
ул. Переяславская, 23,
тел. 72-10-39.

Ответственный секретарь редакции *Ф. А. Приходько*
Научный редактор *В. И. Луговой*
Редактор *Л. А. Рябина*
Технический редактор *В. Н. Волкова*
Корректор *Н. П. Спичак*

Сдано в набор 18.07.88. Подп. в печ. 03.10.88. БЦ 23153. Формат 70 × 108/16. Бум. тип. № 1. Выс. печ. Усл. печ. л. 4,9. Уч.-изд. л. 5,18. Усл. кр.-отт. 5,6. Тираж 1000 экз. Заказ № 8-797. Цена 65 к. Отпечатано с матриц Харьковской книжной фабрики им. М. В. Фрунзе в Харьковской городской типографии № 16, 310003, Харьков, Университетская, 16. Зак. 1492.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ОТДЕЛЕНИЕ ФИЗИОЛОГИИ

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ОТДЕЛЕНИЕ БИОХИМИИ, ФИЗИОЛОГИИ
И ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

КРИОБИОЛОГИЯ

4 1988

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ОСНОВАН В ЯНВАРЕ 1985 ГОДА
ВЫХОДИТ 4 РАЗА В ГОД

КИЕВ НАУКОВА ДУМКА 1988

СОДЕРЖАНИЕ

Калакуцкий Л. В., Сидякина Т. М. Анабиоз и консервация микроорганизмов . . .	3
Мануильский В. Д., Сидоренко Т. В. Криолабильный компонент клеток высших растений	10
Радченко Д. Г., Сандомирский Б. П., Слабая И. А., Снурников А. С. Математическая модель цирроза для объяснения механизма криостимуляции регенерации печени	13
Жегунов Г. Ф., Микулинский Ю. Е. Периодическое обновление белков мембран кардиомиоцитов сусликов в цикле гибернация-пробуждение	17
Грищенко В. И., Попов Н. Н., Курбанов С. Д. Ключико-иммунологические параметры у родильниц с септическими послеродовыми заболеваниями, осложненными анемией, до и после трансфузии криоконсервированных клеток костного мозга	24
Шафранов В. В., Тен Ю. В., Резницкий В. Г., Цыганов Д. И., Кожевников В. А. Комбинированное микроволновое и криовоздействие на биоткани в эксперименте и клинике	27
Загоруйко Ю. В., Загоруйко Г. Е., Бабийчук Г. А. Морфометрическая оценка кардиозащитных свойств краниocereбральной гипотермии в эксперименте . . .	32
Миляновский А. И., Сенчук А. Я., Гордиенко В. М., Лихторович С. А. Показатели клеточного иммунитета в процессе криохирургического лечения больных с предопухолевыми заболеваниями шейки матки	35
Балтайтис Ю. В., Яремчук А. Я., Короленко В. Б., Мальцев В. Н. Локальная гипотермия в лечении заболеваний прямой кишки	37
Хворостов Е. Д., Сандомирский Б. П., Синельников А. Я., Лебедь В. М. Экспериментальное обоснование криовоздействия при селективной проксимальной ваготомии	40

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Демин Ю. А., Шарлай Т. М. Влияние низкотемпературного консервирования на структурную организацию ткани склеры	43
Шкромиды М. И., Панько В. П. Криодеструкция как самостоятельный метод лечения опухолей придатков органа зрения	44

© Издательство «Наукова думка», «Криобиология», 1988

This One



BG9F-0BY-850P

<i>Павличенко С. А., Лагода А. Е., Пеев Б. И.</i> Эндоскопическая криообработка кровоточащих язв желудка и двенадцатиперстной кишки	46
<i>Говоруха Г. П., Козлова В. Ф.</i> Влияние гипотермии на морфофункциональное состояние печени на этапах пре- и раннего постнатального развития крыс	47
ХРОНИКА	48
ЗАЩИТА ДИССЕРТАЦИЙ	51

CONTENTS

<i>Kalakutsky L. V., Sidiyakina T. M.</i> Anabiosis and preservation of microorganisms .	3
<i>Manuilsky V. D., Sidorenko T. V.</i> A cryolabile component of higher plant cells . .	10
<i>Ravchenko D. G., Sandomirsky B. P., Slabkaya I. A., Snurnikov A. S.</i> A mathematical model of liver cirrhosis for the cryostimulation mechanism of liver regeneration .	13
<i>Zhegunov G. F., Mikulinsky Yu. E.</i> Repeated renewal of membrane proteins in ground squirrel cardiomyocytes during hibernation and awakening	17
<i>Grishchenko V. I., Popov N. N., Kurbanov S. D.</i> Clinical and immunological parameters in parturients with septic anemia-complicated puerperal diseases before and after transfusion of cryopreserved bone marrow cells	24
<i>Shafranov V. V., Ten Yu. V., Reznitsky V. G., Tsyganov D. I., Kozhevnikov V. A.</i> The combined effect of microwaves and low temperature on biological tissue in experiment and clinic	27
<i>Zagoruyko Yu. V., Zagoruyko G. E., Babiychuk G. A.</i> The morphometric estimation of the efficiency of experimental craniocerebral hypothermia for heart protection .	32
<i>Milanovsky A. I., Gordiyenko V. M., Senchuk A. Ya., Likhtorovich S. A.</i> Parameters of the cellular immunity in patients with pretumor diseases of cervix uteri treated by cryosurgery	35
<i>Baltaytis Yu. V., Yaremchuk A. Ya., Korolenko V. B., Maltsev V. N.</i> The treatment of rectal diseases using local hypothermia	37
<i>Khvorostov E. D., Sandomirsky B. P., Sinelnikov A. Ya., Lebed V. M.</i> The experimental substantiation of cryoapplication in selective proximal vagotomy	40

SHORT COMMUNICATIONS

<i>Demin Yu. A., Sharlay T. M.</i> The effect of cryopreservation on the structural arrangement of sclera tissue	43
<i>Shkromida M. I., Panko V. P.</i> Cryodestruction as a method of choice for treating tumors of adnexa oculi	44
<i>Pavlichenko S. A., Lagoda A. E., Peyeв B. I.</i> Endoscopic cryotreatment of bleeding gastric and duodenal ulcers	46
<i>Govorukha T. P., Kozlova V. F.</i> The effect of hypothermia on the morphofunctional state of rat liver at the stages of prenatal and early postnatal development	47
CHRONICLE	48
DEFENSE OF THESES	51

АНАБИОЗ И КОНСЕРВАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Новые результаты исследований в области генетики, биохимии, физиологии и экологии микроорганизмов, полученные за последние десятилетия, не дают пока четких представлений о процессах, ответственных за обратимый переход клеток микроорганизмов в покоящееся и анабиотическое состояние [11, 12, 15, 22].

Среди научных и практических задач, тесным образом связанных с проблемами покоя и анабиоза, важное значение имеет задача надежной консервации лабораторных культур микроорганизмов [3, 12], длительного сохранения их в некотором исходном состоянии — состоянии, свойственном им в природе или созданном человеком в результате генетических, физиологических и других манипуляций. Теоретическое значение проблемы связано с тем, что механизмы обратимого перевода вегетативных клеток микроорганизмов в анабиотическое состояние продолжают оставаться непонятными до конца, а потому сознательное управление соответствующими процессами затруднено. Поскольку клетки микроорганизмов, особенно прокариот, организованы значительно проще клеток высших животных и растений, существует надежда на то, что упомянутые механизмы удастся расшифровать прежде всего с использованием клеток микроорганизмов. В работах по консервации микроорганизмов, несмотря на их преимущественно эмпирический характер, отражен исключительно широкий спектр биологических объектов, устойчивость которых к используемым или разрабатываемым приемам консервации колеблется от весьма высокой (споры и т. п.) до практически нулевой (клетки некоторых экстремофилов, облигатных симбионтов и т. п.). Как успех, так и, в отдельных случаях, неудачи используемых приемов консервации могут выявить объекты, особенно интересные для изучения процессов обратимого перехода в анабиотическое состояние. Практическое значение проблемы связано с возрастающей потребностью микробиологической науки и промышленности постоянно иметь в своем распоряжении высокожизнеспособные и стабильные по всем возможным показателям культуры.

Микроорганизмы, как известно, при поддержании их пересевами могут теряться, загрязняться, меняться и вообще «дегенерировать». По мере того, как все более ясными делаются наши представления о причинах и характере спонтанной изменчивости, мобильных генетических элементах, старении клеток и т. п. [4], становится очевидным, что активный рост и размножение клеточных популяций, сопровождаемых высоким уровнем обмена, тесным образом связаны с причинами генетических изменений микроорганизмов. В таких популяциях имеет место не только постоянная и плохо управляемая селекция определенных фенотипов, но и постоянное возникновение новых (или утрата старых) генотипов. Этот аспект проблемы, по-видимому, будет привлекать к себе все большее внимание по мере нарастания интереса к поддержанию в коллекциях не только микроорганизмов, являющихся продуктами длительного отбора, но и клонов их, вновь созданных с помощью генной и клеточной инженерии [21]. Во многих случаях окажется целесообразным до предела сократить сроки пребывания микроорганизмов в активном вегетативном состоянии. Здесь-то и оказываются желательными четкие представления и разнообразные эксперименталь-

подходы к обратимому погружению клеток микроорганизмов в покоящееся и анабиотическое состояние [9, 23].

Богатый эмпирический опыт коллекций [3, 12, 21] свидетельствует о том, что ряд современных методов консервации оказывается относительно эффективным при поддержании лабораторных культур микроорганизмов — по крайней мере, относительное число полных потерь и трудностей здесь меньше, чем при консервации более сложных биологических систем (тканей и органов высших животных и растений). Однако эффективная консервация с полным сохранением популяций представляет собой проблему, особенно если учесть необычайное физиологическое разнообразие микроорганизмов и тот факт, что способность сохранять жизнеспособность в определенных условиях оказывается связанной не только с родом, видом или подвидом микроорганизма, но нередко и с его расой [14]. Поэтому как бы ни был ценен опыт коллекций по сохранению культур, актуаль-

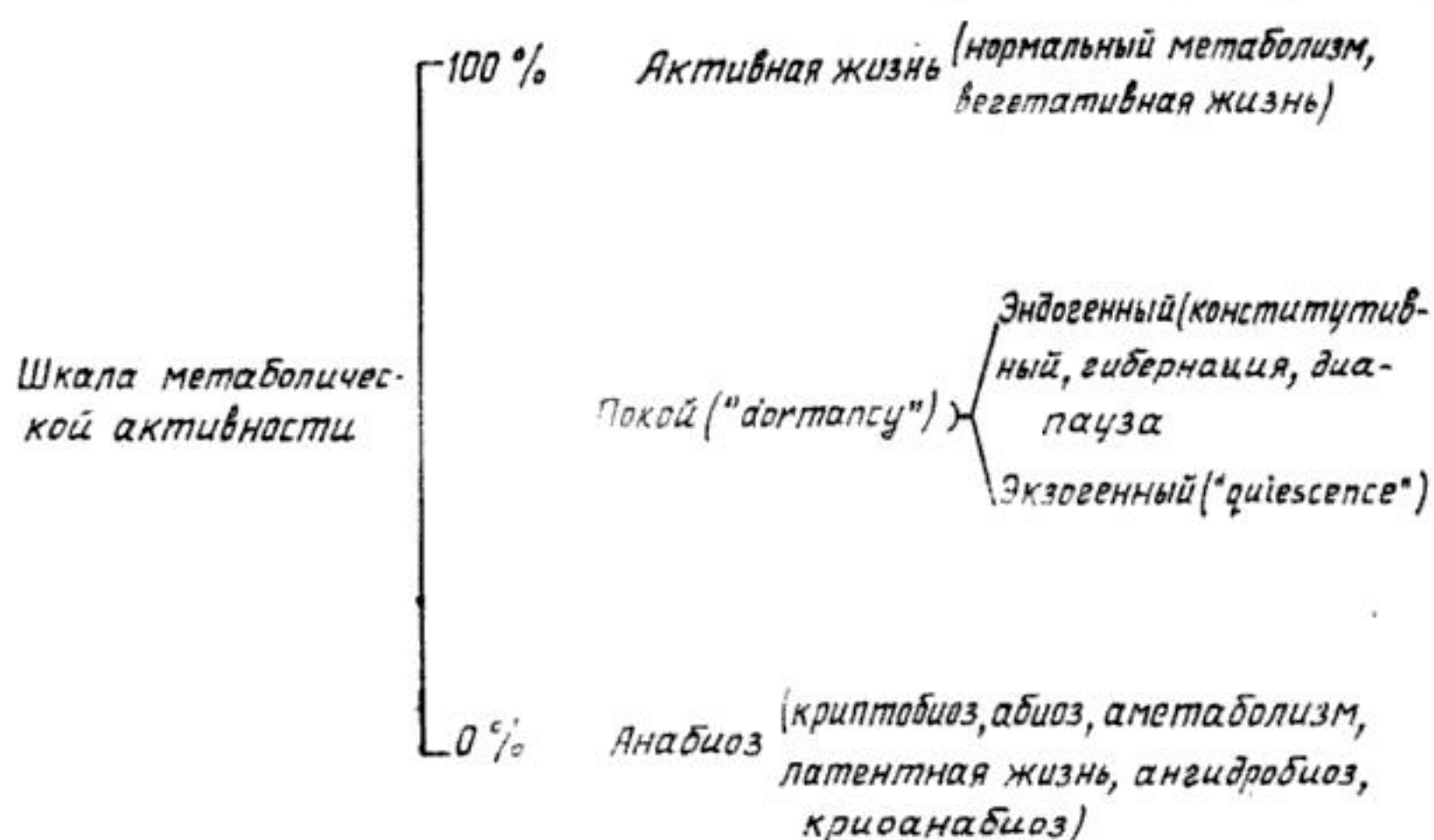


Схема классификации уровней метаболической активности (по [23], модифицировано)

ной остается и попытка анализа природных процессов, в ходе которых многие микроорганизмы успешно сохраняются в природе, несмотря на сравнительно часто возникающие условия, не способствующие активной жизнедеятельности отдельных их групп. Механизмы этих процессов в отдельных, более хорошо изученных случаях образования специализированных покоящихся клеток оказываются столь эффективными, что обеспечивают сохранение жизнеспособности и генетической стабильности микроорганизмов в течение весьма длительных сроков.

Пределы сроков сохранения жизнеспособности микроорганизмов в природе точно неизвестны [1, 22]. Если даже в отсутствие специальных целенаправленных мероприятий некоторые микроорганизмы в лабораторных условиях сохраняют жизнеспособность в течение ряда месяцев и десятилетий [17], то случаи выделения жизнеспособных микроорганизмов из различных осадков [25] и льдов [6], возраст которых измеряется тысячами, документируются все более точно. Отдельные сообщения о выделении жизнеспособных микроорганизмов из осадков и пород, возраст которых насчитывает многие миллионы лет, нуждаются в подтверждении в условиях более строгих опытов [16].

Теоретические расчеты [1, 10, 22] говорят о возможности весьма длительного сохранения жизнеспособности микроорганизмами в условиях торможения большинства химических реакций. Лишь в немногих случаях, однако, можно конкретно судить о том, какие именно реакции и в каких сочетаниях являются критическими для сохранения жизнеспособности клетками. В условиях, исключающих биодеградацию, ряд органических

молекул, по уточняющимся данным, может сохраняться в течение миллионов лет.

В ходе изучения длительно законсервированных в природе микроорганизмов выявляется достаточно простая закономерность: ориентировочная продолжительность сохранения жизнеспособности прямо связана с уровнем снижения метаболической активности самих клеток (рекордные сроки выживания спор) и условиями (температурой и влажностью среды), активному обмену не способствующими. На рисунке представлена схема классификации уровней метаболической активности. Состояние эндогенного (конститутивного) покоя достигается с помощью механизмов, реализующихся в ходе образования специализированных покоящихся клеток (табл.). Состояние экзогенного покоя достигается при наступлении внешних условий, содействующих снижению уровня обмена, но не исключающих сохранения клетками жизнеспособности вплоть до наступления условий, благоприятных нормальному метаболизму. Несмотря на наличие типичных примеров эндогенного (покоящиеся эндоспоры бацилл) и экзогенного (лиофилизированные клетки тех же бацилл) типов покоя, граница между ними не является абсолютной. Максимально длительное сохранение жизнеспособности обеспечивается сочетанием механизмов эндогенного и экзогенного покоя (например, хранение эндоспор бацилл при температуре жидкого азота).

Сопоставление механизмов, реализующихся при переходе в анабиотическое состояние специализированных покоящихся клеток микроорганизмов, с процессами лабораторной консервации культур

Процессы или агенты	Образование специализированных покоящихся клеток	Консервация культур
Обезвоживание	Протопласты зрелых эндоспор бацилл и конидий грибов содержат в 2 — 3 раза меньше воды, чем вегетативные клетки	Высушивание, <i>L</i> -высушивание, лиофилизация, замораживание
Иммобилизация	Молекулы ДНК, ионы и, возможно, ряд белков иммобилизуются в «цементе» эндоспор бацилл. Споры грибов и актиномицетов часто содержат повышенное количество оформленных гранул запасных веществ и липидов	Хранение на «носителях» (зерна силикагеля, песок, целлюлоза, почва и др.)
Протекторы	В спорах грибов, дрожжей и актиномицетов часто повышено содержание дисахарида трегалозы, а также других сахаров, полисахаридов и многоатомных спиртов. Роль протектора по отношению к ДНК в эндоспорах бацилл выполняют, возможно, дипиколиновая кислота и ее комплексы с кальцием, белки и другие вещества	Используются при высушивании и замораживании (белки, сахара, многоатомные спирты и др.)
Изменение проницаемости клеток	Состав и структура мембран спор и цист часто изменены. Для многих спор характерно утолщение клеточных стенок и формирование дополнительных оболочек	Изменение состава и свойств мембран в опытном порядке осуществляется при подготовке клеток к консервации путем изменения состава среды и температуры культивирования

В связи с необходимостью разработки комплексных подходов к консервации микроорганизмов необходимо отметить, что практика консервации, развивавшаяся на протяжении многих десятилетий, эмпирически выработала ряд приемов (табл.), в той или иной степени соответствующих тем механизмам погружения клеток микроорганизмов в анабиотическое состояние, которые были выявлены (и продолжают выявляться) при изучении образования, свойств и прорастания специализированных покоящихся клеток микроорганизмов [9, 18, 23]. Практика консервации, одна-

ко, использует, как нам представляется, не все открывающиеся в этой области возможности, равно как и не все их комбинации.

Существующая практика консервации ориентируется обычно на задачу создания по возможности немногочисленных и специализированных приемов, позволяющих перевести в анабиотическое состояние вегетативные клетки разнообразных микроорганизмов. Такие клетки лишены (или в предлагаемых условиях не проявляют) способности к погружению в эндогенный (конститутивный) покой, а потому эмпирические процедуры перевода их в экзогенный покой (с помощью высушивания, замораживания и т. д.) и вывода из него нередко создают стрессовые ситуации, могущие приводить к гибели значительной части популяции, фенотипическим и даже генотипическим [5, 21] нарушениям, что особенно нежелательно при хранении коллекционных культур. Эмпирические же приемы уменьшения стрессов (с помощью подбора протекторов, режимов и т. д.) пока лишь частично достигают желаемых целей.

Стрессы, которым подвергаются живые, в особенности вегетативные и активно растущие клетки микроорганизмов при консервации, возникают на различных этапах: дегидратация-хранение-регидратация при высушивании, замораживание-хранение-оттаивание при низкотемпературном замораживании и криоконсервации, замораживание-высушивание-хранение-регидратация при лиофилизации. Повреждения клеточных структур могут возникать на каждом из этих этапов и проявлять себя по-разному в зависимости от природы организма, состава защитной среды, режимов дегидратации и условий восстановления [3, 5, 21]. В настоящее время полагают, что нарушения структурно-функциональной организации мембранного аппарата клеток в первую очередь определяют жизнеспособность микроорганизмов при консервации [3, 15]. Помимо нарушений мембранного аппарата, при консервации микроорганизмов могут происходить изменения и других важных клеточных структур и молекул. При лиофилизации, например, могут происходить нарушения, которые не восстанавливаются при реактивации: необратимые повреждения клеточных мембран, ядерного аппарата, ДНК, РНК, белков; у подвергавшихся лиофилизации культур наблюдали ослабление пигментации, нарушение окислительного метаболизма, снижение общего уровня антибиотической активности и многие другие изменения. В то же время экспериментальные данные свидетельствуют о том, что ДНК микроорганизмов устойчива к повреждениям при обычно используемых на практике режимах замораживания-оттаивания, и достигаемое при этом состояние криоанабиоза наиболее эффективно обеспечивает сохранение генетической стабильности макроорганизмов при длительном хранении.

Как отмечалось, достаточно многочисленные популяции микроорганизмов (даже потомков одной клетки), особенно при поддержании пересевами, в силу многих причин, относящихся к естественной изменчивости, могут оказаться фенотипически и генотипически неоднородными, в сущности представлять собой популяцию смешанных клонов. Как в случае смешанных культур, члены такой популяции могут характеризоваться различающейся устойчивостью к воздействиям, которым они подвергаются в ходе консервации [21]. Популяционные сдвиги в подвергавшихся консервации культурах микроорганизмов отмечались неоднократно. Они, по-видимому, представляют собой результаты отбора на устойчивость к консервирующим воздействиям и не должны выпадать из поля внимания исследователей. Рассмотрение этих обстоятельств наводит на мысль о том, что сохранению генетической и фенотипической однородности популяции может способствовать сокращение числа консервирующих воздействий, и потому длительное хранение культур микроорганизмов, например в жидком азоте, может иметь преимущества перед высушиванием и лиофилизацией.

Успехи в практической консервации конкретных культур микроорганизмов, однако, можно оценить как скромные, учитывая, например, ре-

зультаты попытки сохранить в лабораторий в интактном виде одно из природных сообществ микроорганизмов [8], состав которого не был заранее известен.

Могут быть названы несколько направлений исследований и разработок, где учет, интерпретация и попытки экстраполяции опыта естественного отбора представляются особенно интересными (табл.).

Одно из них связано с подготовкой культур к стрессовым ситуациям в процессе консервации. Излишне напоминать, что у тех культур, у которых образование специализированных покоящихся клеток может быть вызвано любыми известными средствами, его целесообразно вызвать. Имеется, однако, немало культур, у которых образование таких клеток пока неизвестно, и консервации подлежат вегетативные клетки. Общими направлениями действий в таком случае могут быть попытки индукции защитных реакций и снижение уровня метаболизма.

Поскольку глубокая исследовательская работа с индивидуальным штаммом не всегда возможна или желательна, среди защитных реакций микроорганизмов в первую очередь заслуживают анализа те, что связаны с ответом не на один, а сразу на несколько стрессовых факторов. Привлекает внимание, в частности, возможное наличие общих звеньев (наряду со специфическими) в реакции клеток микроорганизмов на такие факторы, как температурный шок, голодание, повышение осмолярности среды, окислители и другие химические вещества [2, 6, 19, 20]. Работы указанного направления позволяют предполагать существование у микроорганизмов некоего общего и неясного пока в деталях механизма защиты от стресса — механизма, действие которого может быть индуцировано достаточно разнообразными по своему характеру внешними сигналами.

Снижение уровня обмена веществ при достижении специализированными клетками микроорганизмов конститутивного покоящегося состояния, по-видимому, происходит с участием химических ингибиторов метаболизма. Природа их, а равно характер и топография подавляемых ими метаболических реакций лишь изредка служили предметом специального пристального внимания. Как и в предыдущем случае, важно установить, имеются ли в числе различных аутоингибиторов метаболизма вещества достаточно генерализованного и обратимого действия. Именно в такой группе можно надеяться обнаружить те, что могут оказаться перспективными для использования при консервации. Ограниченный опыт, который имеется пока в использовании микробостатических веществ для других целей, свидетельствует о возможной перспективности использования для обратимого снижения уровня метаболизма консервируемых культур таких агентов, как тяжелая вода, углекислота, инертные газы, некоторые анестетики, летучие факторы почвенного микробостаза, невысокие концентрации борной кислоты и формалина [2].

Определенного повышения устойчивости мембран клеток микроорганизмов к замораживанию и высушиванию ранее старались добиться преимущественно путем воздействия на ее состав условиями культивирования [3] или выдерживанием клеток при пониженной температуре. Возможно, что такие достаточно известные в практике консервации микроорганизмов приемы, как использование для искусственного перевода в анабиотическое состояние преимущественно клеток из культур, достигших стационарной фазы роста, или хранение прекративших рост культур в герметически замкнутом пространстве, могут быть рассмотрены в плане поиска все более активных воздействий, способствующих снижению уровня обмена вегетативных клеток и тем самым более эффективному последующему переводу их в анабиотическое состояние путем удаления воды и понижения температуры.

Сопоставление случаев эмпирически подобранных практикой консервации протекторов с теми, что накапливаются в специализированных эндогенно покоящихся клетках микроорганизмов, показывает как отдель-

ные интересные совпадения (глицерин), так и случаи, заслуживающие более пристального анализа (трегалоза). Действительно, именно в случае трегалозы продемонстрировано [7] действие высоко специфического молекулярного механизма защиты мембран при высушивании. Перспективны, по-видимому, не только поиск других подобных протекторов, но и более широкие опыты по использованию трегалозы при консервации вегетативных клеток того довольно широкого круга микроорганизмов, которые способны ее накапливать в качестве резервного и (или) защитного вещества (многие грибы, дрожжи, актиномицеты и бактерии).

Повышению устойчивости вегетативных клеток микроорганизмов к стрессовым воздействиям, сопровождающим консервацию, может способствовать иммобилизация клеток на различных носителях и матриксах. В практике коллекционной работы хранение на разнообразных носителях, эмпирически найденное, используется десятилетиями и рассматривается как перспективное направление [3,12]. Как известно, иммобилизация на разнообразных носителях — один из процессов, значительно повышающих стабильность и устойчивость молекул ферментов и других белков к изменениям температуры, высушиванию и другим неблагоприятным воздействиям [13]. Иммобилизация на твердых носителях во многих случаях способствует и длительному сохранению инфекционных свойств вирусов и бактериофагов. Широко известны случаи длительного сохранения вегетативных клеток многих микроорганизмов в почве [14]. Возможность сохранения жизнеспособности неразмножающимися (предположительно интактными) и вегетативными (иммобилизованными) клетками микроорганизмов в физиологических интервалах влажности и температуры редко исследовалась как самостоятельная задача в связи с техническими трудностями. Отдельные наблюдения свидетельствуют о том, что она может быть большой (годы) и еще увеличена с развитием мягких способов иммобилизации, подбором соответствующих носителей и условий контроля жизнеспособности. Не совсем ясно, в каком физиологическом состоянии находятся живые неразмножающиеся иммобилизованные клетки микроорганизмов, всегда ли необходимы экзогенные источники энергии для поддержания их жизнеспособности и в какой степени такие клетки могут рассматриваться как находящиеся на том или ином уровне покоящегося состояния. Наличие такого состояния можно предполагать здесь лишь на основании косвенных данных — длительности сохранения клетками жизнеспособности с учетом того, что мягкая иммобилизация может создавать для отдельных клеток специфическое микроокружение: локально повышать концентрацию протонов и микробостатических метаболитов, протекторов, снижать концентрацию кислорода и др. Иммобилизующий матрикс в этом случае может выполнять какие-то функции капсулы или гликокаликса — структуры, привлекающей к себе внимание в связи с сохранением микроорганизмов в природных условиях. Отмечалось, что при адгезии клетки микроорганизмов могут претерпевать деформации, оказывающие влияние на проницаемость их мембраны. Повышенной способностью к адгезии обладают голодающие клетки.

Накопление в вегетативных клетках микроорганизмов резервных питательных веществ и отложение последних в виде водонерастворимых гранул или капель создает определенные предпосылки для своеобразной иммобилизации на поверхности таких гранул молекул клеточных биополимеров, а может быть, и органелл. В этой связи необходимо отметить, что повышение накопления в вегетативных клетках бактерий, в частности азоспирилл гранул поли- β -оксибутирата, значительно увеличивает устойчивость таких клеток к высушиванию, замораживанию и обработке ультразвуком [24]. Отложение гранул запасных веществ в вегетативных клетках микроорганизмов весьма часто индуцируется условиями недостатка тех или иных питательных элементов.

1. Аксенов С. И. О предельной продолжительности анабиоза у микроорганизмов // Микробиология. — 1982. — 51. № 5. — С. 877—879.
2. Калакуцкий Л. В., Сидякина Т. М. Сохранение жизнеспособности микроорганизмами в природе и основные подходы к консервации лабораторных культур // Торможение жизнедеятельности клетки / Под. ред. М. Е. Бекера. — Рига: Зинатне, 1987. — С. 19—31.
3. Сидякина Т. М. Консервация микроорганизмов // Сер. Консервация генетических ресурсов. — Пущино: Изд-во ОНТИ НЦ БИ АН СССР, 1985. — 63 с.
4. Хесин Р. Б. Непостоянство генома. — М.: Наука, 1985. — 472 с.
5. Ashwood-Smith M. J. Genetic damage is not produced by normal cryopreservation procedures involving either glycerol or dimethyl sulfoxide: a cautionary note, on possible effects of dimethyl sulfoxide // Cryobiology. — 1985. — 22. — P. 427—433.
6. Cameron R. E., Morelli F. A. Viable microorganisms from ancient Ross Island and Taylor Valley drill core // Antarctic Journal U. S. — 1974. — 9, N 4. — P. 113—116.
7. Growe J. H., Crowe L. M., Chapman D. Preservation of membranes in anhydrobiotic organisms: the role of trehalose // Science. — 1984, 223. — P. 701—703.
8. Federle T. W., White D. C. Preservation of estuarine sediments for lipid analysis of biomass and community structures of microbiota // Appl. Envir. Microbiol. — 1982. — 44. — P. 1166—1169.
9. Gould G. W., Hurst A. Eds. The bacterial spore. 2 vol. London: Acad. Press, 1984. — 421 p.
10. Horneck G. Microorganisms in Space // Adv. Space Res. — 1981. — 1. — P. 39—48.
11. Keilin D. The problem of anabiosis or latent life: history and current concept (The Leeuwenhock lecture) // Pros. Roy. Soc. Ser. B. — 1959. — 150. — P. 149—191.
12. Kirsop B. E., Snell J. J. Eds. Maintenance of microorganisms. A manual of laboratory methods. — London: Acad. Press. — 1984. — 207 p.
13. Linko P., Linko J. J. The industrial application of immobilized cells // CRC Crit. Rev. Biotechnol. — 1985. — 1. — P. 1—39.
14. Lowendorf H. Factors affecting survival of *Rhizobium* in soil // Adv. Microb. Ecol. — 1980, 4. — P. 87—124.
15. Mazur P. Limits of life at low temperatures and reduced water content and water activities // Orig. Life. — 1980. — 10, N 2. — P. 137—159.
16. Morita R. J. Starvation — survival of heterotrophs in marine environment // Adv. Microb. Ecol. — 1982. — 6. — P. 171—198.
17. Moseley B. E. B. Enteric bacteria from the past // Microbiol. Sci. — 1985. — 2, N6. — P. 169.
18. Reusch R. N., Sadow H. L. Novel lipid components of the *Azotobacter vinelandii* cyst membrane. — Nature, 1983. — 302. — P. 268—270.
19. Richer A., Hecker M. Heat-Shock proteins in *Bacillus subtilis*: a twodimensional gel electrophoresis study // FEMS Microbiol. Lett. — 1986, N 36. — P. 69—71.
20. Schlesinger M. J., Ashburner M., Tissieres A. Heat shock. From bacteria to man. — New York: Cold Spring Harbor, 1982. — 253 p.
21. Sharp R. J. The preservation of genetically unstable microorganisms and the cryopreservation of fermentation seed cultures // Adv. Biotechnol. Processes. — 1984. — 3. — P. 81—109.
22. Sneath P. H. A. Longevity of microorganisms // Nature. — 1962. — 195, N 4842. — P. 634—646.
23. Sussman A. S., Halverson H. O. Spores. Their dormancy and germination. — New York: Harper and Row, 1966. — 391 p.
24. Tal S., Okon J. Production and function of poly- β -hydroxybutyrate in *Aspirillum brasilense* // Nitrogen Fixation with Non-Legumes: Abstract Book, 3-d Int. Symp. — Helsinki, 1984. — P. 91.
25. Unsworth B. A., Cross T., Seaward M. R., Sims R. E. The longevity of thermoactinomyces endospores in natural substrates // J. Appl. Bacteriol. — 1977. — 42. — P. 45—52.

Ин-т биохимии и физиологии
микроорганизмов АН СССР, г. Пущино

Поступила 15.12.86

*В. Д. Мануильский, Т. В. Сидоренко***КРИОЛАБИЛЬНЫЙ КОМПОНЕНТ КЛЕТОК
ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

Специфика развития криоповреждений у растительных клеток при действии низкотемпературных стрессов в значительной степени определяется структурно-функциональными модификациями плазматических мембран, которые проявляются в виде агрегации или дисперсии компонентов бислоя [15]. Однако интерпретация имеющихся в литературе данных усложняется тем, что в большинстве работ мембраны рассматриваются как изолированные системы, а также отсутствуют четкие представления об изменениях процессов самосборки, вызванных криодеградацией полярных липидов или сегрегацией липопротеидных комплексов [1]. Можно считать установленным, что в высокогидратированных клетках растений процессы везикуляции либо слияния мембран при криострессе (в зависимости от типа мембраны) в значительной степени определяются деградацией фосфолипидов при кристаллизации воды в наиболее гидратированных компартментах [9]. Но таких данных недостаточно для объяснения процессов, вызывающих повышение устойчивости мембран, связанных со стабилизацией ее компонентов. Кроме того, исходя из современных моделей строения мембраны, можно предположить, что на специфику криоповреждений существенное влияние оказывают гликопротеины [11], а также структурные элементы кортикального слоя цитоплазмы [10], принимающие участие в образовании межмембранных контактов.

Одним из наиболее перспективных подходов, позволяющих выяснить причины повышения устойчивости клеток к действию экстремальных режимов замораживания, является изучение действия двухвалентных катионов на процессы самосборки плазматических мембран, изолированных из тканей древесных в зимний период, поскольку, как было показано ранее [9], в этом случае они обладают высокой устойчивостью к действию низкотемпературных стрессов.

Для экспериментов были выбраны ткани однолетних побегов яблони, которые находились в состоянии вынужденного или органического покоя в зимний период. При подборе сред для изолирования мембранных фракций были испытаны буферы, применяющиеся для выделения солюбилизированных компонентов и полимеризирующихся фрагментов [2,6]. Оптимальной для наших целей оказалась среда, которая наряду с выделением сравнительно чистой фракции микросом позволяла получать и самособирающийся компонент. Она включала 50 мМ имидазол — HCl, 0,45М сахарозы, 4 мМ АТФ, 5 мМ NaF, 4 мМ меркаптоэтанола (рН среды 7,8). Ткани коры для выделения мембранных фракций измельчали, гомогенизировали и дважды центрифугировали — 15 мин при 20 тыс. *g* и 30 мин при 100 тыс. *g*. Последний осадок промывали и использовали как микросомальную фракцию. Супернатант после перечисленных процедур настаивали 12 ч при 37 °С до помутнения раствора. Раствор осветляли центрифугированием при 20 тыс. *g*. Осадок дважды промывали и определяли массу. В дальнейшем этот осадок называли самособирающимся компонентом супернатанта (СКС). В нем определяли содержание белка [13], липидов [5] и полисахаридов [8, 16]. Активность K^+ - H^+ -АТФ-азы определяли по методике, описанной в работе [7]. Идентификацию этой АТФ-азы проводили при помощи ингибиторного анализа, позволяющего сделать вывод об отсутствии митохондриального загрязнения и неспецифических кислых фосфатаз.

Супернатант замораживали со скоростью 100—120 °С мин⁻¹, а отогревали — 60—80 °С мин⁻¹. Эксперименты выполнялись на деионизированной воде в стерильных условиях. Ультраструктурную организацию СКС ис-

следовали под электронным микроскопом IEM 100B. Материал фиксировали в 2,5 %-ном глутаральдегиде с последующей дофиксацией 0,1 %-ной осмиевой и таниновой кислотами. После обезвоживания материал заливали в эпоксидные смолы по традиционной методике. Ультратонкие срезы контрастировали насыщенным раствором уранилацетата.

Количественный анализ СКС (табл.) свидетельствует о том, что он в основном состоит из углеводов, идентифицированных на 80 % как галактоза, а также белка липидов. Исходя из методов выделения, СКС, вероятно, представляет собой легкую фракцию агрегирующихся мембранных компонентов клетки.

Количественный состав самособирающегося компонента супернатанта (СКС)

Показатели	СКС		СКС + 2мМ ЭГТА	
	К	LN ₂	К	LN ₂
Масса СКС, %	100	76,5	71,7	92,6
Белок, мкг/мг	35,4 ± 1,8	21,8 ± 2,3	36,4 ± 3,1	22,0 ± 1,6
Липиды, мкг/мг	14,7 ± 1,7	5,0 ± 0,4	4,1 ± 0,5	3,3 ± 0,5
Галактоза, мкг/мг	58,2 ± 3,8	64,8 ± 3,7	67,9 ± 4,6	71,9 ± 5,2

Примечание. К — контроль, без обработки; LN₂ — СКС после замораживания до -196° С и отогрева.

Изучение ультраструктурной организации СКС с помощью трансмиссионной электронной микроскопии (рис. 1,2) выявило два компонента, отличающихся между собой по электронной плотности: один из них представ-



Рис. 1. Ультраструктурная организация самособирающегося компонента супернатанта (СКС). X30000: ac — аморфные структуры, fo — фибриллярные образования

Рис. 2. Ультраструктурная организация СКС после криостресса. X25000: ac — аморфные структуры, fo — фибриллярные образования

лял аморфные структуры, другой — плотные компактные образования. Исходя из специфики связывания фиксаторов, можно предположить, что фибриллярные образования напоминают гликолипиды либо гликопротеиды [11], а аморфные — липопротеидные комплексы. При проведении стрессовых режимов замораживания (рис. 2) структурная организация СКС изменялась в основном за счет диспергирования аморфной структуры. Объяснить такие эффекты можно тем, что при замораживании агрегация СКС подавляется в результате снижения способности его составляющих к взаимодействию. Кроме того, не исключается, что при замораживании могут образовываться более легкие фрагменты, которые не осаждаются при седиментации.

После стрессовых режимов замораживания СКС содержал на 38 % меньше белка и на 66 % липидов, в то время как количество галактозы увеличивалось на 10 %. Введение в супернатант 2 мМ ЭГТА вызывало также снижение массы СКС. Такие эффекты напоминают изменения при замораживании с той только разницей, что содержание белка в СКС не менялось. Замораживание супернатанта с ЭГТА приводило к увеличению агрегационной способности СКС. В этом случае возрастало содержание галактозы, но снижалось содержание липидов и белка на 20 и 40 % соответственно.

Сопоставление реакции маркерных ферментов плазматических мембран в микросомах и СКС показало, что активность K^+ - H^+ -АТФ-азы в обеих фракциях увеличивалась при замораживании (рис. 3). В то же время катионы Ca^{2+} и Mg^{2+} по-разному стимулировали эту АТФ-азу. Так, при криострессе Mg^{2+} в большей степени, чем Ca^{2+} , активировали АТФ-азу

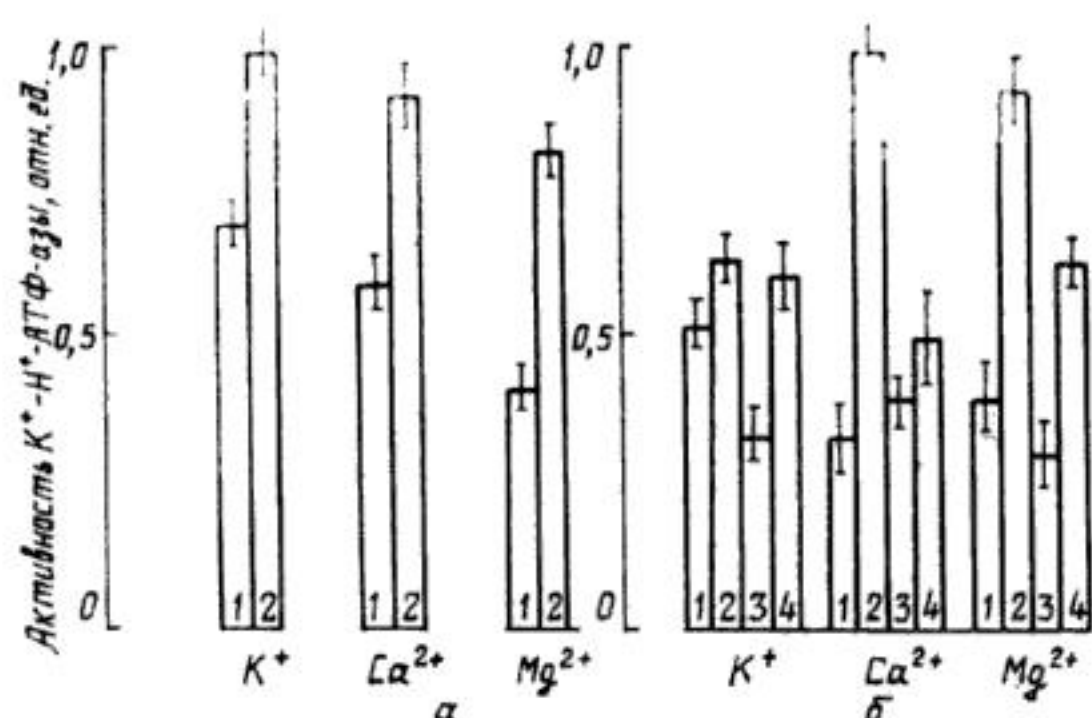


Рис. 3. Влияние ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} на активность K^+ - H^+ -АТФ-азы микросомальной фракции (а) и СКС (б), изолированных из тканей коры побегов яблони: 1, 3 — контроль без обработки; 2, 4 — после замораживания до $-196^\circ C$ и отогрева; 1, 2 — без ЭГТА; введение в среду выделения 2 мМ ЭГТА

в микросомальной фракции, а в СКС наблюдалась обратная закономерность. Важно отметить, что АТФ-азы СКС слабее реагировали на стрессовые режимы замораживания по сравнению с микросомальной фракцией. В этом случае можно предположить, что наблюдаемые эффекты связаны с более низким по сравнению с микросомами содержанием липидного компонента, который, как известно, существенно влияет на активность АТФ-аз плазмалеммы растений [7].

В литературе приводятся данные о том, что из-

менение активности ферментативных комплексов митохондрий в среде с ЭГТА после замораживания является результатом неспецифических реакций, связанных с повышением доступности ферментативных центров для комплекса [12]. Другие авторы считают, что действие криоповреждений у древесных выражается в низкотемпературной активации фосфолипаз, которая обусловлена изменениями концентрации двухвалентных катионов и pH [4]. В нашем случае после замораживания супернатанта с 2 мМ ЭГТА содержание липидов снижалось на 20 %, что в итоге могло оказать влияние на активирование АТФ-азы ионами Ca^{2+} и Mg^{2+} .

Учитывая то, что агрегационная способность компонентов СКС в значительной степени определяется содержанием ионов Ca^{2+} , можно предположить, что при стрессовых режимах замораживания, приводящих к деградации липидов, важную роль играют углеводные компоненты, которые, как показано на микрофотографиях, служат структурообразователями для аморфной части мембранного материала. Кроме того, исходя из важной функциональной роли ассоциированных с плазматическими мембранами растений кальциевых сайтов [3] и их роли в стабилизации мембран [14], можно предположить, что изолированный нами комплекс принимает участие в реализации механизмов устойчивости мембран к действию низких температур.

1. Белоус А. М., Бондаренко В. А. Структурные изменения биологических мембран при охлаждении. — Киев: Наук. думка, 1982. — 255 с.
2. Гиоева Ф. К., Гельфанд В. И., Розенблат В. А. Белок, образующий с актином гель в экстракте селезенки, является миозином // Докл. АН СССР. — 1984. — 274, № 5. — С. 1248—1250.

3. Заалишвили Г. В. Электронно-микроскопическое изучение локализации кальция в клетках корневых апексов ячменя. Автореф. дис. канд. биол. наук.— М., 1983.— 21 с.
4. Йошида С. Распад фосфолипидов при замерзании растительных клеток // Холодостойкость растений.— М.: Колос, 1983. С. 97—111.
5. Кейтс М. Техника липидологии.— М.: Мир, 1975.— 293 с.
6. Медди Э., Дани М. Солюбилизация мембран // Биохимические методы исследования мембран.— М.: Мир, 1979.— С. 160—175.
7. Палладина Т. А., Педченко В. К., Симчук Е. Е. Реактивация фосфолипидами солюбилизированной H^+ -АТФ-азы плазматических мембран корней кукурузы // Докл. АН СССР.— 1986.— 287, № 6.— С. 1499—1501.
8. Починок Х. Н. Методы биохимического анализа растений.— Киев.: Наук. думка, 1976.— 334 с.
9. Сытник К. М., Мануильский В. Д. Криорезистентность мембран и вопросы криоконсервации высших растений // Криобиология.— 1985.— № 2.— С. 5—12.
10. Фултон А. Цитоскелет. Архитектура и хореография клетки.— М.: Мир, 1987.— 118 с.
11. Хьюз Р. Гликопротеины.— М.: Мир, 1985.— 140 с.
12. Araki T. Release of cholesterol-enriched microvesicles from human erythrocytes caused by hypertonic saline at low temperatures // FEBS lett.— 1979.— 7, N 2.— P. 237—240.
13. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem.— 1951.— 193, N 1.— P. 265—276.
14. Roux S. J., Slocum R. D. Role of calcium in mediating cellular functions important for growth and development in higher plants // Calcium and cell function.— 1982.— 3, ch. 13— P. 409—453.
15. Steponkus P. L., Dowger M. F., Gordon-Kamm W. J. Destabilization of the plasma membrane of isolated plant protoplast during a freeze-thaw cycle: The influence of cold acclimation // Cryobiology.— 1983.— 20, N 4.— P. 448—465.
16. Svennerholm L. The quantitative estimation of cerebrosides in nervous tissue // J. Neurochem.— 1956.— 1, N 1.— P. 42—46.

Ин-т ботаники им. М. Г. Холодного АН УССР,
1 Киев

Поступила 08.09.86

УДК 61.001.57

**Д. Г. Радченко, Б. П. Сандомирский, И. А. Слабкая,
А. С. Снурников**

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ЦИРРОЗА ДЛЯ ОБЪЯСНЕНИЯ МЕХАНИЗМА КРИОСТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ

В настоящей работе представлена динамическая модель цирроза печени, вызванного хронической интоксикацией, и даны направления патогенетического лечения, в том числе с применением дозированной криодеструкции паренхимы органа как альтернативы гепатэктомии. Экспериментальные данные свидетельствуют об аутоиммунном характере цирроза печени [1], которая принимает активное участие в обезвреживании токсических веществ в крови, оттекающей от органов брюшной полости. Связывание их в клетках печени может привести к появлению качественно новых антигенов и в дальнейшем индуцировать иммунную реакцию.

С целью качественного описания развития и обратного течения болезни, а также определения влияния на него различных терапевтических и хирургических воздействий, в том числе с применением низких температур, результаты моделирования сравнивались с проводимыми экспериментами [6], чем обеспечивалась дополнительная проверка исходных предположений. Кроме того, для оценки результатов моделирования и уточнения механизмов процесса предложены целенаправленные исследования, имеющие самостоятельный интерес с точки зрения лечения исследуемой патологии.

Предложенная модель описывается системой пяти уравнений 1-го порядка:

$$\dot{C}_1 = k_{12} \cdot C_2 - k_{21} \cdot C_1 + D \cdot \sum_{i=0}^N \delta(t - \tau \cdot i), \quad (1)$$

$$\dot{C}_2 = k_{21} \cdot C_1 - (k_{12} + k_{02}) \cdot C_2, \quad (2)$$

$$\dot{X} = \mu \cdot X - \nu X^2 - \beta XY - \alpha \cdot C_2 X \quad (3)$$

$$\dot{G} = \sigma (\beta XY + \alpha C_2 X) - \gamma G, \quad (4)$$

$$\dot{Y} = hGY - \delta XY - \varepsilon Y. \quad (5)$$

Предполагаемой причиной появления аутоиммунных реакций против гепатоцитов является наличие в них гепатотропного вещества, например четыреххлористого углерода, периодически вводимого в организм. Первые два уравнения системы описывают динамику изменения концентрации яда в гепатоцитах. При их написании использована модель гепатоциты-кровь [2]. В этих уравнениях C_1 — концентрация гепатотоксина в крови, C_2 — в гепатоцитах, D — доза однократного введения, τ — период между введениями, N — количество введений, t — текущее время. Коэффициент k_{12} определяет скорость перехода токсина из крови в гепатоциты, k_{21} — из гепатоцитов в кровь, k_{02} — в желчь; они зависят от степени поражения органа. Однако скорость их изменения гораздо меньше, чем скорость изменения C_1 и C_2 , и в дальнейшем мы будем считать их квазипостоянными.

Уравнения (1) и (2) позволяют описать процессы адаптации организма к длительной интоксикации посредством определения установившейся зависимости концентрации гепатотропного яда в клетках печени от времени и могут быть решены точно. Функция $C_2(t)$ при хронической интоксикации описывает кривую с насыщением и колебаниями с периодом затравки вокруг установившегося среднего значения. Уровень среднего значения гепатотропного агента в гепатоцитах определяется соотношением между k_{12} , k_{21} , k_{02} , D и τ , и чем быстрее печень нейтрализует яд, тем выше пики его концентрации после очередного введения. Именно такое увеличение скорости экспериментально зарегистрировано в работе [2]. Отсюда следует, что при дозах поступления токсического вещества, значительно меньших критической, со временем пики его концентрации превзойдут порог возбуждения самоподдерживающегося аутоиммунного процесса, что приведет к развитию цирроза.

В уравнениях модели (3), (4), (5), описывающих аутоиммунный процесс, предполагается, что при разрушении гепатоцитов поглощенным ими химическим агентом выделяется антиген, который стимулирует клон аутоиммунных лимфоцитов. Образовавшиеся при этом специфические лимфоциты дополнительно разрушают клетки органа, что приводит к дальнейшему высвобождению новых порций антигена [3].

Обозначим через M число функционирующих гепатоцитов. Введем «эффективную» концентрацию клеток печени, отнеся их число к общему объему крови V : $X = \frac{M}{V}$.

Уравнение

$$\dot{X} = \mu X - \nu X^2 \quad (6)$$

описывает динамику роста здоровой ткани. Оно имеет стационарное решение $X_0 = \mu/\nu$, где μ — скорость пролиферации гепатоцитов, X_0 — концентрация гепатоцитов в норме. Учитывая гибель клеток от воздействия повреждающего химического агента и цитотоксических лимфоцитов, получим уравнение (3). Будем считать, что скорость образования аутоантигена пропорциональна скорости гибели гепатоцитов под действием гепатотропного вещества и лимфоцитов. Тогда, учитывая распад антигена за счет других систем организма, гибель лимфоцитов под действием супрессоров и дру-

гих факторов, разрушение их при взаимодействии с клетками печени, получим уравнения (4) и (5).

Система уравнений (3), (4), (5) исследовалась качественно методом фазового портрета [4] и на ЭВМ СМ-4 методом Рунге-Кутты [5]. Для нее C_2 — внешняя сила, зависящая от времени. В остальном эта система не связана с уравнениями (1) и (2). Поскольку на этапе качественного исследования нас интересуют возможные типы исходов заболевания, т. е. вид фазового портрета при различных значениях C_1 , скорости пролиферации гепатоцитов C_2 , активности супрессоров e , скорости пролиферации лимфоцитов h и других параметров, а также учитывая, что все коэффициенты уравнений (3) — (5) и средняя концентрация C_2 являются медленно изменяющимися параметрами системы, мы полагаем эти коэффициенты не зависящими от времени и тяжести заболевания и лишь изменяющими фазовый портрет. Концент-

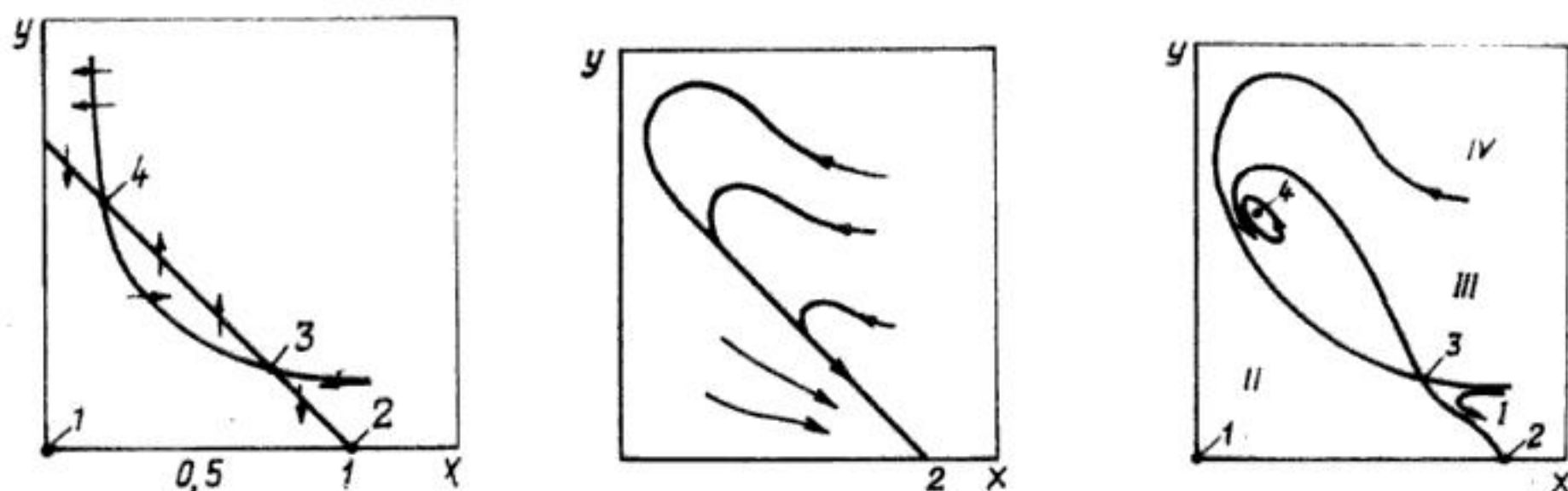


Рис. 1. Главные изоклины и особые точки системы (7) — (9) при $c_2 = 0$

Рис. 2. Фазовый портрет системы (7) — (9) при $(1 - d)^2 - 4b < 0$, $c_2 = 0$

Рис. 3. Фазовый портрет системы (7) — (9) при $(1 - d)^2 - 4b \geq 0$, $c_2 = 0$, $d < 1$ и $a[d + 2b/(1 - d - \sqrt{(1 - d)^2 - 4b})] < 1$

рацию освободившегося антигена в крови обозначим G , эффективную концентрацию лимфоцитов — Y . Перейдем к безразмерным переменным:

$$X = \frac{\mu}{v} x, \quad C_2 = \frac{\mu}{\alpha} c_2, \quad Y = \frac{\mu}{\beta} y, \quad \tau = \mu t, \\ G = \frac{\mu\sigma}{v\gamma} g, \quad a = \frac{h\sigma\mu}{\gamma v}, \quad d = \frac{\delta}{av}, \quad b = \frac{e}{a\mu}.$$

В новых переменных система имеет вид:

$$\frac{dx}{d\tau} = x - x^2 - xy - c_2 x, \quad (7)$$

$$\frac{dg}{d\tau} = \gamma(xy + c_2 x) - \frac{\gamma}{\mu} g, \quad (8)$$

$$\frac{dy}{d\tau} = ay \left(\frac{g}{\mu} - dx - b \right). \quad (9)$$

Поскольку время установления концентрации антигена гораздо меньше времени изменения количества клеток x и y , то уравнение (8) можно исключить из системы. На рис. 1 представлены изоклины вертикальных ($x = 0$, $y = 1 - c_2 - x$) и горизонтальных ($y = 0$, $y = d - c_2 - b/x$) касательных, а также особые точки редуцированной системы. Точка 1 при $c_2 < 1$ — седловая, при $c_2 > 1$ — устойчива. Точка 2 при $c_2 < 1$ и $c_2 < d$ — устойчива, при $(1 - c_2)(c_2 - \delta) > b$ — седловая, при $c_2 > 1$ точка исчезает в положительной области значений x . Точки 3 и 4 присутствуют при $(1 - d)^2 - 4b \geq 0$, если $c_2 = 0$ и $d < 1$. При $d > 1$ изоклины не пересекаются. Если точки 3 и 4 существуют, то точка 3 всегда седловая, точка 4 устойчива при $a[d + 2b/(1 - d - \sqrt{(1 - d)^2 - 4b})] < 1$. Если эта точка теряет устойчивость, то вокруг нее рождается устойчивый предельный цикл. На рис. 2 и 3 представлены два варианта фазового портрета системы при $c_2 = 0$

и различных соотношениях между параметрами. Рис. 2 соответствует варианту, когда точки 3 и 4 отсутствуют. При этом организм после снятия затравки способен полностью восстановить поврежденный орган. Рис. 3 иллюстрирует случай, когда в зависимости от условий в момент прекращения введения токсина возможны различные варианты течения болезни. Из областей I и II интегральные кривые достаточно быстро сходятся в точку 2, соответствующую состоянию здорового организма. Из области IV все интегральные кривые попадают в область II, но при этом они так близко подходят к оси y , что благоприятный исход в данном случае можно рассматривать чисто теоретически. Из области III на рис. 3 интегральные кривые идут либо в точку 4, «наматываясь» на нее, если она устойчива, либо «притягиваются» к устойчивому предельному циклу. Такое развитие процесса соответствует хроническому течению заболевания с периодическими обострениями.

Наличие токсина c_2 сдвигает изоклину горизонтальных касательных вниз, а точку 2 — влево. При достижении c_2 критического значения гипербола пересекает точку 2 и последняя теряет устойчивость, тогда как точка 4 становится устойчивой. Но новое положение точки 4 находится в области I или II портрета при $c_2 = 0$. Поэтому, если прекратить поступление в организм гепатотропного яда, то система приходит к норме — в точку 2. Хронический процесс в отсутствие подачи токсина может развиваться при медленном удалении его из печени, либо при его персистировании в гепатоцитах с наличием случайных флуктуаций в системе иммунитета. Первое из этих условий выполняется при длительной интоксикации организма химическим веществом, когда происходит накопление продуктов распада и медленный их вывод, второе — при возникновении цирроза в результате персистирования вируса при хроническом гепатите. Случайные флуктуации разрушают состояния системы, ставшие неустойчивыми, ускоряя тем самым увеличение концентрации лимфоцитов при потере устойчивости точкой 2. Период движения по предельному циклу, как показали расчеты, составляет приблизительно 1 год, т. е. периоды между обострениями продолжаются около 12 мес. Такая продолжительность цикла нуждается в уточнении и проведении дополнительных экспериментальных и клинических исследований для определения коэффициентов уравнений. Однако она косвенно подтверждается характером течения заболеваний и периодом реабилитации больных этой группы. К этому следует добавить, что хирургическое вмешательство является компонентом комплексного лечения, и выбор оптимального времени для наибольшей результативности всего лечения очень важен.

Сделаем несколько предположений по выбору воздействий, которыми можно вывести систему из состояния болезни. В случае, изображенном на рис. 2, организм способен сам нейтрализовать цитотоксически действующие лимфоциты, что и наблюдается, как правило, у крыс после прекращения введения четыреххлористого углерода. Ускорить этот процесс можно путем увеличения митотического индекса гепатоцитов.

Более интересен и практически важен случай, изображенный на рис. 3, который отражает хроническое течение заболевания с периодическими обострениями в отсутствие токсина. Вывести систему из этого состояния можно двумя путями. Первый путь — частичная резекция или криодеструкция печени. Такая операция резко уменьшает количество клеток печени и может перевести систему в область II. Из фазового портрета видно, что такое воздействие целесообразнее выполнять на спаде обострения, когда расстояние от линии цикла до границы области II минимально. Такое вмешательство увеличивает митотический индекс гепатоцитов — μ , что, с одной стороны, ускоряет процесс выздоровления, если область II достигнута, с другой, — приближает границу между областями II и III к точке 4. Рассеянное по объему органа криовоздействие увеличивает митотический индекс гепатоцитов на уровне резекции части органа или криодеструкции

доли, но уменьшает травматичность вмешательства [6]. Кроме того, согласно модели, лучшей является такая методика операции, при которой в большей степени увеличивается митотический индекс гепатоцитов, так как при этом возможно уменьшение объема разрушаемого органа.

Второй путь влияния на состояние цирроза — изменение параметров иммунной системы организма и перевод портрета, изображенного на рис. 3, в портрет на рис. 2, что может быть достигнуто иммунодепрессивной терапией. Однако такое воздействие уменьшает митотический индекс гепатоцитов [3]. На этом пути возможны поиски подходов, оптимально действующих на иммунную систему с точки зрения лечения цирроза печени.

Данная качественная модель цирроза печени рассматривает патогенез заболевания и возможности направленной коррекции, акцентируя внимание на аутоиммунном разрушении гепатоцитов, индуцированном гепатотропными ядами, а также применения иммунодепрессии, гепатэктомии, в том числе и дозированной криодеструкции органа.

1. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. С., Голубка Т. В. и др. Аутоиммунные процессы и их роль в клинике внутренних болезней.— Киев: Здоров'я, 1985.— 159 с.
2. Еникеева Э. Х., Сондоре В. Ю., Рейнхольд Э. Р. Применение многокамерных моделей кинетики красителей в исследовании поглотительно-выделительной функции печени // Успехи гепатологии.— Рига: Рижский медицинский институт, 1980.— С. 110—125.
3. Бабаева А. Г. Регенерация и система иммуногенеза.— М.: Медицина, 1985.— 256 с.
4. Романовский Ю. М., Степанова Н. В., Чернавский Д. С. Математическая биофизика.— М.: Наука, 1984.— 303 с.
5. Демидович Б. П., Марон И. А. Основы вычислительной математики.— М.: Наука, 1966.— 321 с.
6. Сандомирский Б. П., Волкова Н. А., Журавлев А. С. и др. Механизм криостимуляции регенерации поврежденных тканей // Криобиология.— 1985.— № 1.— С. 29—36.

Ин-т проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 11.10.86

УДК 57.017.3 : 576.314

Г. Ф. Жегунов, Ю. Е. Микулинский

ПЕРИОДИЧЕСКОЕ ОБНОВЛЕНИЕ БЕЛКОВ МЕМБРАН КАРДИОМИОЦИТОВ СУСЛИКОВ В ЦИКЛЕ ГИБЕРНАЦИЯ-ПРОБУЖДЕНИЕ

Известно, что клеточные мембраны различных тканей гетеротермных животных при подготовке к зимней спячке приобретают специфические свойства: модифицируется липидный состав, изменяются температурозависимые кинетические параметры функционирования мембранных ферментов [8, 9, 10]. Считается, что указанные свойства мембран клеток зимоспящих животных практически не изменяются в течение всего сезона гибернации и способствуют обеспечению жизнедеятельности в условиях глубокой гипотермии [10]. Однако на протяжении нескольких месяцев зимней спячки гибернирующие животные спонтанно пробуждаются через каждые 10—15 дней. При этом за короткий промежуток времени (3—5 ч) происходит повышение температуры тела на 30—35 °С [3, 10]. Во время пробуждения значительно увеличивается функциональная нагрузка на различные органы разогревающихся животных, в частности, число сердечных сокращений увеличивается с 5—10 ударов в мин при температуре тела 2—4 °С до 350—400 при 32—36 °С [3]. Неизвестно, изменяются ли каждый раз во время периодических пробуждений свойства мембранных систем кардио-

миоцитов и какие особенности клеток обеспечивают им столь быстрое приспособление к функционированию при различных температурах. С целью выяснения данного вопроса в настоящей работе были изучены интенсивности процесса синтеза белка, скорость и механизм обновления белкового состава мембран кардиомиоцитов зимоспящих млекопитающих при быстром изменении температуры тела при пробуждении.

Опыты проводили на длиннохвостых сусликах в зимний период. Сусликов исследовали в активном состоянии (температура тела 35—36 °С), в период зимней спячки (1—4 °С), на начальном этапе пробуждения (10 °С), на заключительном этапе пробуждения (32 °С). Эксперименты проводились также на незимоспящих животных — беспородных крысах. С целью искусственного пробуждения сусликов их вынимали из гнезда и клали на подстилку в холодной комнате. Сразу после этого начиналось спонтанное пробуждение млекопитающих, и через 3—5 ч температура их тела дости-

гала 32—37 °С. Интенсивность синтеза белка изучали изотопным методом с использованием ³⁵S-метионина. Изотоп вводили животным внутрибрюшинно из расчета 1,4 мКи на кг массы. Спустя 5 ч активных и пробуждающихся животных декапитировали, а гибернирующих грызунов забивали спустя 100 ч после введения метки. Для того, чтобы гибернирующие суслики не пробудились в момент инъекции соблюдали следующие условия: вводили охлажденный раствор, укол производили в холодной комнате,

Таблица 1

Интенсивность включения меченых аминокислот в белки сердца сусликов после внутрибрюшинного введения ³⁵S-метионина (имп. в мин на 10 мг ткани)

Состояние животных	Включение меченых аминокислот в белки	Пул меченых аминокислот в ткани
Гибернирующие (спустя 100 ч после введения метки)	3000 ± 350	42400 ± 400
Гибернирующие (пересчет на 5 ч)	150	—
Пробуждающиеся (спустя 5 ч после введения метки)	152000 ± 16800	24000 ± 2500
Активные (спустя 5 ч после введения метки)	92700 ± 10700	23500 ± 2400

сусликов не вынимали из гнезда, инъекцию производили в начале баута. Из ткани левого желудочка сердца готовили навески по 10 мг. Препараты сразу гомогенизировали в 1 мл физиологического раствора, добавляли равный объем 10 %-ной трихлоруксусной кислоты и дальнейшую обработку вели на фильтрах по методу Кеннела [5]. В другой серии экспериментов изучали синтез белка клетками в срезах органов интактных сусликов. Для этой цели сразу после декапитации животных извлекали сердце и готовили срезы массой 15 мг. Срезы инкубировали в среде Хенкса, содержащей в качестве метки ¹⁴C-гидролизат белка 0,5 мКи при 37 °С. Через 1 ч инкубации навески тканей гомогенизировали в физрастворе и обрабатывали далее, как описано выше [5]. Фракции плазматических мембран, саркоплазматического ретикулума и митохондрий выделяли методом дифференциального центрифугирования [1]. Количество меченого белка, включившегося в мембраны, определяли гомогенизацией их в трихлоруксусной кислоте и нанесением на фильтры [5]. Для электронно-микроскопического исследования препараты ткани левого желудочка сердца готовили по стандартному методу [2].

Установлено, что спустя 100 ч после внутрибрюшинного введения изотопа уровень включения меченых аминокислот в белки сердца гибернирующих сусликов был довольно заметным (табл. 1). Видно также, что при пониженных температурах тела грызунов в ткань органа попадает значительное количество изотопа. Видимо, проницаемость меченых аминокислот из внутрибрюшинного пространства в кровь и из крови в ткань не является лимитирующим фактором их включения во вновь синтезируемые бел-

ки. При пересчете на 5 ч количества включившейся метки в белки клеток гибернирующих грызунов (для правомерности сравнения параметров синтеза у активных, пробуждающихся и спящих сусликов) показан очень низкий уровень синтеза общих белков в кардиомиоцитах зимоспящих по сравнению с таковым у активных животных. Интенсивность синтеза составляет лишь 0,16 % от уровня отмеченного процесса в тканях активных сусликов. При пробуждении грызунов наблюдается существенная активация процесса синтеза белков в кардиомиоцитах (табл. 1). Интенсивность включения метки возрастает на три порядка по сравнению с этим показателем у гибернирующих сусликов и превосходит в 1,6 раза величину изучаемого процесса у активных млекопитающих. Таким образом, показана гиперактивация процесса синтеза белков в клетках сердца при разогревании сусликов. При этом гиперактивация биосинтеза белка связана, вероятно,

Таблица 2

Интенсивность включения ^{35}S -метионина в белки срезов левого желудочка сердца сусликов в различных условиях инкубации (имп. в мин на 15 мг ткани)

Условия инкубации	Срезы сердца активного суслика	Срезы сердца пробуждающегося суслика	Срезы сердца гибернирующего суслика
Среда Хенкса	10500 $\pm$ 1000	12500 $\pm$ 1500	15500 $\pm$ 2000
Плазма активно-го суслика	14500 $\pm$ 1500	—	14000 $\pm$ 1500
Плазма просыпающегося суслика	12000 $\pm$ 1500	—	12500 $\pm$ 1000
Плазма гибернирующего суслика	12500 $\pm$ 1000	—	13000 $\pm$ 1500
Плазма суслика, впадающего в спячку	13000 $\pm$ 1500	—	14000 $\pm$ 2000

с заключительным этапом разогрева, так как нами показано ранее [4], что в первые 60—90 мин температура тела пробуждающихся животных повышается очень медленно и спустя указанный промежуток времени составляет всего 10—12 °С. После этого этапа скорость разогрева значительно увеличивается одновременно с повышением частоты сердечных сокращений и спустя еще 60—90 мин температура тела пробуждающегося суслика достигает 32—35 °С [4]. То есть то количество вновь синтезированных белков, которое обнаруживается в кардиомиоцитах при просыпании млекопитающих, образовано, по-видимому, за последние 60—90 мин. Следовательно, можно предположить, что интенсивность образования белков в клетках сердца пробуждающихся сусликов на самом деле выше, чем у активных животных не в 1,6, а по крайней мере, в 3 раза. Примерно через сутки после пробуждения показатель синтеза белков в клетках сердца активных сусликов снижается и стабилизируется на уровне гомойотермных животных [4].

Отмеченные закономерности не сохраняются при проведении экспериментов на изолированных кусочках миокарда (табл. 2). Показано, что меченые аминокислоты одинаково активно включаются в срезы миокарда гибернирующих, пробуждающихся или активных сусликов. Таким образом, изолированные кусочки сердца не сохраняют свойства органа в интенсивности метаболизма, характерного для организма, находящегося в определенном физиологическом состоянии. При инкубации срезов миокарда в плазме крови сусликов, которые были декапитированы в различных физиологических состояниях, показано, что интенсивность процесса синтеза

белков не изменяется (табл. 2). Это характерно для ткани сердца как активного, так и гибернирующего грызуна. Скорость измеряемого параметра в плазме не отличается также от таковой в среде Хенкса. Следовательно, в плазме всех групп животных нет каких-либо физиологически активных веществ, оказывающих влияние на интенсивность процесса синтеза белков.

В следующей серии экспериментов показано, что в мембраны клеток миокарда разогревающихся сусликов за тот же период времени встраивается в 1,5—2 раза больше меченых белков, чем в соответствующие мембранные фракции из тканей сердца активных сусликов (табл. 3). Наибольшее количество меченых белков определяется в митохондриальной фракции. Интенсивно происходит также обновление белков в плазматических мембранах и мембранах саркоплазматического ретикулума кардиомиоцитов пробуждающихся животных. Включение вновь синтезированных белков в мембранные фракции кардиомиоцитов гибернирующих сусликов происходит очень медленно и составляет 0,54 % от интенсивности указанного процесса у активных животных.

Таблица 3

Интенсивность включения меченых аминокислот в белки клеточных фракций миокарда сусликов (имп. в мин на 1 мг белка)

Клеточные фракции	Состояние животных			
	Гибернирующие		Пробуждающиеся	Активные
	инкубация метки 100 ч	пересчет на 5 ч		
Сарколемма	760 ± 100	38	11900 ± 2080	7050 ± 850
Саркоплазматический ретикулум	1100 ± 150	55	11200 ± 1200	5000 ± 630
Митохондрии	2850 ± 300	142,5	15500 ± 1760	6800 ± 700
Растворимые белки цитоплазмы	400 ± 45	20	8900 ± 760	4500 ± 580

При электронно-микроскопическом изучении клеток миокарда гетеротермных животных отмечено, что одним из отличий клеток пробуждающихся сусликов является наличие в околоядерной зоне комплекса органелл, ответственных за синтез белков и формирование везикул (рис. 1). Этого не обнаруживается в кардиомиоцитах гибернирующих животных и крайне редко наблюдается в зрелых клетках миокарда гомеотермных млекопитающих [6]. Около ядра клеток сердца разогревающихся животных обнаруживается значительное количество элементов шероховатого эндоплазматического ретикулума (ШЭР), аппарата Гольджи (АГ), а также рибосом и везикул. Эта зона насыщена также липидными включениями и митохондриями. В некоторых митохондриях гибернирующих и пробуждающихся сусликов обнаружены электронно-плотные образования величиной 60,0—80,0 нм, имеющие структуру «розеток». Отдельные гранулы этих розеток имеют размеры 15,0—25,0 нм. Предполагается, что это могут быть митохондриальные рибосомы, собранные в полисомальный комплекс (рис. 2). Видимо, митохондриальный синтез белка также является существенным для обеспечения структурно-функциональных перестроек органелл. Все перечисленные признаки свидетельствуют о повышении белок-синтезирующей активности клеток миокарда просыпающегося суслика.

Для кардиомиоцитов пробуждающихся сусликов характерно также увеличение числа везикул и окаймленных пузырьков, расположенных около сарколеммы (рис. 3). Многие везикулы сливаются с плазмалеммой, другая часть, по-видимому, отщепляется и переходит в цитоплазму. Указанные морфологические особенности организации клеток могут свидетельствовать об активных процессах обмена мембранного материала плазма-

леммы с везикулами цитоплазмы в процессе пробуждения сусликов от зимней спячки.

Известно, что во время бодрствования зимоспящих млекопитающих клетки миокарда характеризуются физиологическими и биохимическими показателями, которые отличаются от показателей сусликов в состоянии зимней спячки [3, 4, 8, 9]. Во время пробуждения сусликов происходит

усиление функциональной активности миокарда, что требует, видимо, быстрого изменения свойств кардиомиоцитов. В работе показано, что в процессе пробуждения грызунов происходит повышение скорости син-

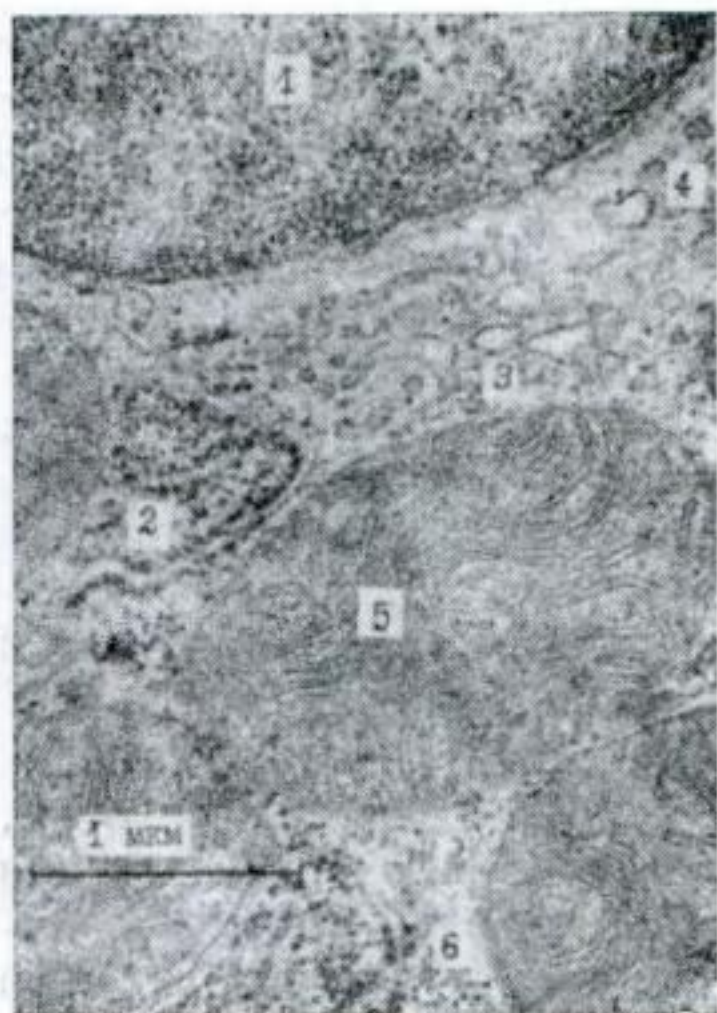


Рис. 1

Рис. 1. Микрофотография участка кардиомиоцита левого желудочка сердца пробуждающегося суслика. Ультраструктура околоядерной зоны: 1 — ядро, 2 — шероховатый эндоплазматический ретикулум, 3 — аппарат Гольджи, 4 — везикулы, 5 — митохондрии, 6 — рибосомы

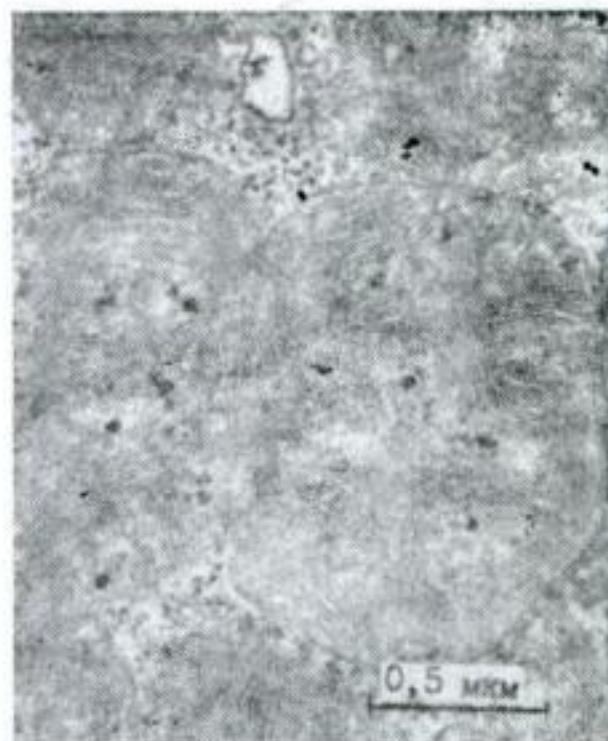


Рис. 2

Рис. 2. Микрофотография митохондрий кардиомиоцита пробуждающегося суслика. Органеллы содержат электронно-плотные сращения

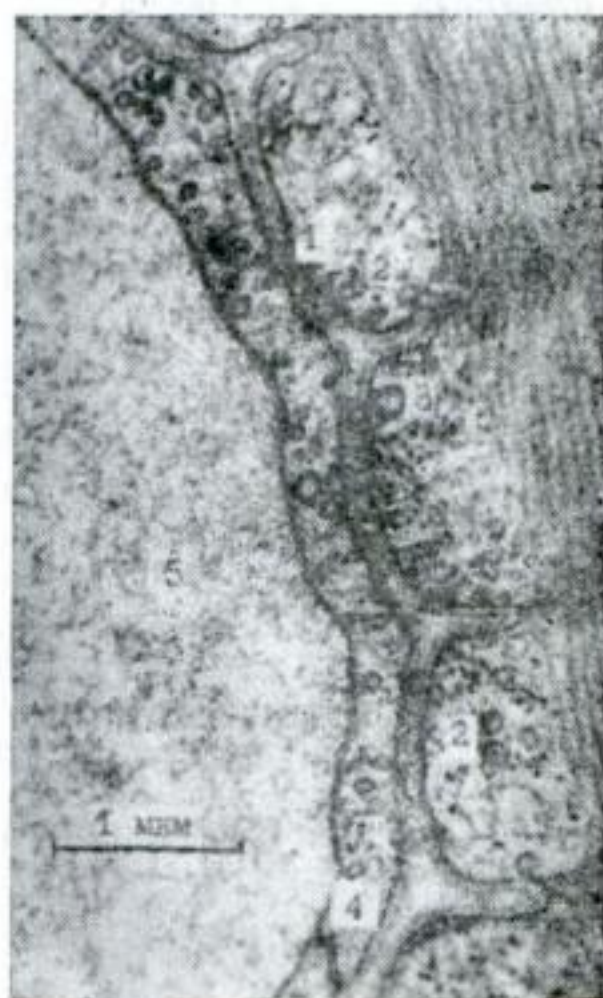


Рис. 3

Рис. 3. Микрофотография участка клетки левого желудочка сердца пробуждающегося суслика. Ультраструктура примембранной зоны: 1 — сарколема, 2 — везикулы, 3 — окаймленные пузырьки, 4 — эндотелиальная клетка, 5 — просвет капилляра

теза белка в клетках сердца. Электронно-микроскопические данные подтверждают биохимические исследования: на микрофотографии кардиомиоцитов хорошо представлен комплекс клеточных органелл, ответственных за синтез белка (рис. 1). Поскольку большое количество вновь синтезированных белков обнаруживается в мембранных фракциях кардиомиоцитов пробуждающихся сусликов (табл. 3), можно предположить, что обновление белкового состава мембранных систем клетки является существенным моментом приспособления организма к этим условиям.

Существует точка зрения, что главную роль при приспособлении пойкилотермных и зимоспящих животных к различным температурам играет изменение липидного и жирнокислотного составов клеточных биомембран [8, 9]. Считается, что подготовка к зимней спячке на уровне организма, клеток и мембран происходит осенью, перед гибернацией. Затем клеточные мембраны не претерпевают существенных модификаций в течение всего периода зимней спячки [10]. Однако представленные данные показывают, что во время периодических пробуждений зимоспящих происходит существенная активация синтеза белка в клетках сердца и увеличение скорости обновления белков субклеточных фракций. Видимо, в процессе адаптации

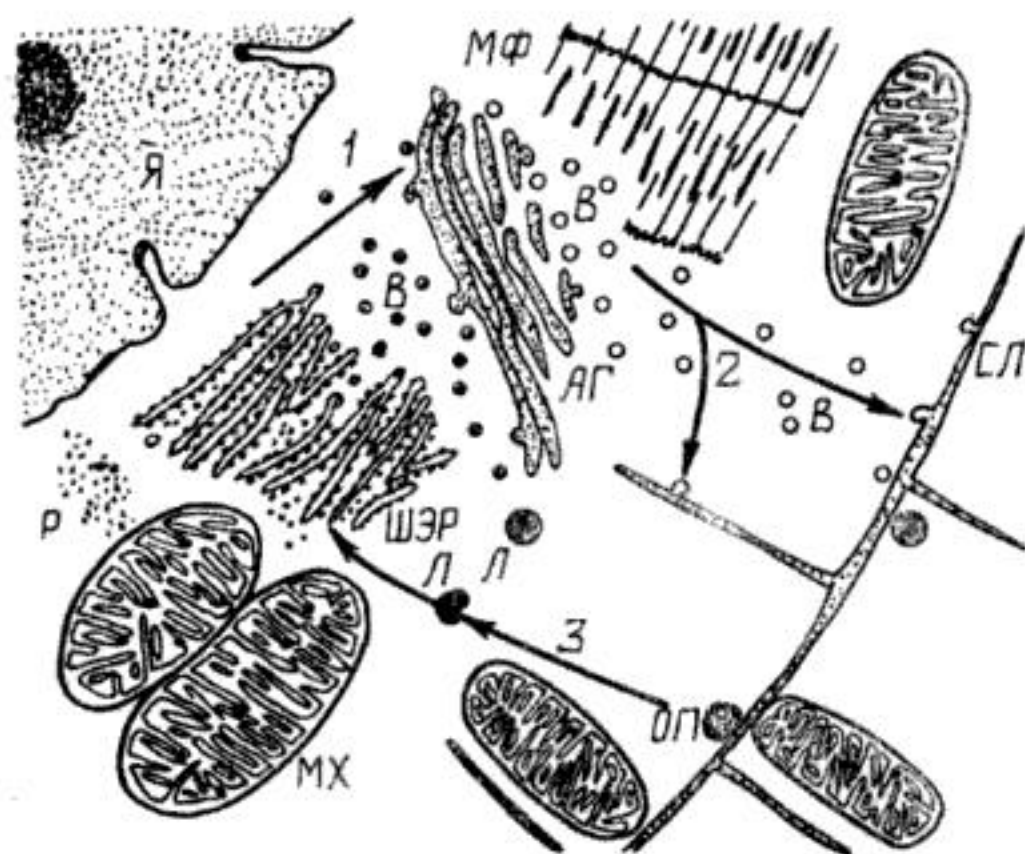


Рис. 4. Схема возможного пути перестройки плазмалеммы в процессе пробуждения зимоспящих животных: 1 — вновь синтезированные белки с ШЭР переносятся к цистернам АГ, где формируются везикулы с определенным белковым и липидным составом, 2 — везикулы («монтажные блоки») перемещаются к СЛ, сливаются с ней, изменяя свойства плазматической мембраны, 3 — отслужившие участки отщепляются от плазмалеммы в виде окаймленных пузырьков и в дальнейшем утилизируются клеткой; СЛ — сарколема, МХ — митохондрии, ШЭР — шероховатый эндоплазматический ретикулум, АГ — аппарат Гольджи, Р — рибосомы, Л — липидные включения, В — везикулы, ОП — окаймленные пузырьки, Я — ядро, МФ — миофибриллы

клеток к различным температурам существенную роль играют не только модификация липидного состава биомембран, но и изменения их белкового состава, а наряду с сезонными изменениями в клетках и мембранах, существуют их модификации и в течение каждого цикла пробуждения. Ранее нами показано [4], что существенная активация синтеза белка в клетках зимоспящих при пробуждении характерна не только для сердца, но также и для многих других органов гетеротермных животных. Гиперактивация синтеза белков, по-видимому, носит приспособительный характер и служит для быстрой перестройки направленности и интенсивности метаболизма в клетках. Несомненно, каждый орган имеет свою специфику, и поэтому направленность синтетических процессов может иметь свои особенности в клетках различных тканей. Однако нам представляется, что интенсификацию синтеза белка в тканях пробуждающихся сусликов, в частности в клетках сердца, можно связать с общей для всех клеток необходимостью восполнения потерянных и измененных во время зимней спячки функциональных и структурных белков. Синтез белков может быть связан также с необходимостью замены части ферментов на специфические изоформы, необходимые для адекватного функционирования клеток при определенной температуре. Указанным путем возможна регуляция практически всех метаболических процессов в клетках, в том числе и структурно-функциональных свойств мембран [7]. Модификация свойств мембран кардиомиоцитов вновь синтезированными белками, по-видимому, является одним из механизмов приспособления миокарда к меняющимся условиям функционирования. Исходя из электронно-микроскопических данных, можно предположить следующий механизм перестройки сарколеммы клеток сердца при пробуждении зимоспящих млекопитающих (рис. 4). Видимо, модификация мембран происходит за счет постепенной замены определенной части мембранного материала плазмалеммы на вновь синтезированные белки и липиды цитоплазматических везикул. На мембранах ШЭР проис-

ходит синтез белка, который затем переносится к аппарату Гольджи, где формируются везикулы с определенным белковым и липидным составом. Эти везикулы перемещаются к сарколемме, сливаются с ней, изменяя свойства плазматической мембраны. Отслужившие участки мембраны отщепляются от плазмалеммы в виде окаймленных пузырьков и в дальнейшем утилизируются клеткой.

Ранее нами показано [4], что существенная активация синтеза белка в клетках зимоспящих при пробуждении характерна не только для сердца, но также и для многих других органов гетеротермных животных. Гиперактивация синтеза белков, по-видимому, носит приспособительный характер и служит для быстрой перестройки направленности и интенсивности метаболизма в клетках. Несомненно, каждый орган имеет свою специфику, и поэтому направленность синтетических процессов может иметь свои особенности в клетках различных тканей.

ходит синтез специфических мембранных белков, например транспортных АТФаз, ионных каналов, рецепторов. В определенном количестве эти белки встраиваются в везикулы и транспортируются к цистернам АГ, где происходит окончательное формирование «монтажных блоков» — везикул с определенным липидным и белковым составом. Далее такие «блоки» могут сливаться с плазмалеммой, изменяя при этом физико-химические свойства мембран и их ферментативную активность. Для сохранения постоянства площади поверхности плазматических мембран из материала сарколеммы также формируются пузырьки, которые отщепляются от мембран и поступают внутрь клетки, где в дальнейшем утилизируются (рис. 3,4). Так как контактов везикул с митохондриями не обнаружено, а в органеллах показана возможность наличия полисом, то можно предположить, что замена белкового и липидного материала указанных органелл и изменение их функциональных свойств в процессе изменения температуры тела зимоспящих происходит в основном за счет внутримитохондриального синтеза. Смысл мембранных перестроек заключается в том, чтобы быстро изменить характеристики клеток сердца пробуждающихся сусликов. При повышении температуры тела суслика сердце сразу начинает работать с повышенной нагрузкой, и поэтому сарколемма и мембраны саркоплазматического ретикулума должны приобрести свойство с большой скоростью проводить ионные токи и при этом сохранить способность к поддержанию ионного градиента. Митохондрии же должны значительно усилить выработку энергии для обеспечения возрастающего уровня метаболизма и повышения теплопродукции.

Таким образом, показано, что в кардиомиоцитах зимоспящих животных происходят циклические изменения синтетической активности клеток, а также периодическое обновление белков мембран в процессе спонтанных пробуждений в период зимней спячки. Перестройка плазматических мембран клеток сердца сусликов в цикле гибернация-пробуждение осуществляется путем замены мембранного материала на бислой цитоплазматических везикул, содержащих вновь синтезированные белки.

1. Биохимическое исследование мембран. Ред. Медди Э.— М.: Мир, 1979.— 460 с.
2. Гайер Г. Электронная гистохимия.— М.: Мир, 1974.— 488 с.
3. Жегунов Г. Ф. Электрофизиологические параметры функционирования сердца сусликов *Citellus undulatus* в процессе пробуждения от зимней спячки // Криобиология.— 1986.— № 1.— С. 31—34.
4. Жегунов Г. Ф., Микулинский Ю. Е. Активация синтеза белка сусликов при пробуждении после зимней спячки // Укр. биохим. журн. 1987.— 59.— № 3.— С. 69—73.
5. Кеннел Д. Использование фильтров для разделения радиоактивных ДНК, РНК и белка // Методы исследования нуклеиновых кислот.— М.: Мир, 1970.— С. 138—144.
6. Румянцев П. П. Кардиомиоциты в процессах репарации, дифференцировки и регенерации.— Л.: Наука, 1982.— 288 с.
7. Хочачка П., Сомеро Д. Стратегия биохимической адаптации.— М.: Мир, 1974.— 303 с.
8. Aloia K. C., Pengelley E. T. Lipid composition of cellular membranes of hibernating mammals // Chem. Zool.— 1979.— 11, N 1.— P. 1—47.
9. Charnock J. S. Membrane lipid phase transitions: a possible biological response to hibernation // Strategies in Cold: Natural Torpidity and Thermogenesis.— New York: Acad. Press, 1978.— P. 417.— 460.
10. Wang L. C. H. Life at low temperature: mammalian hibernation // Cryo-Letters.— 1985.— 6, N 4.— P. 257—274.

Ин-т проблем криобиологии и
криомедицины АН УССР, г. Харьков

Поступила 29.07.86

В. И. Грищенко, Н. Н. Попов, С. Д. Курбанов

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ У РОДИЛЬНИЦ С СЕПТИЧЕСКИМИ ПОСЛЕРОДОВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, ОСЛОЖНЕННЫМИ АНЕМИЕЙ, ДО И ПОСЛЕ ТРАНСФУЗИИ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

Анемия у больных с септическими заболеваниями после родов относится к числу важнейших патологических синдромов, борьба с которым является одной из актуальных проблем акушерства и гематологии [1, 3]. В настоящее время для лечения анемий у родильниц с тяжелым течением септического процесса применяют переливание консервированной и свежеситратной крови в сочетании с белковыми препаратами и γ -глобулином [1—3]. Целью настоящего исследования явилось изучение эффективности применения при данной патологии криоконсервированных аллогенных костномозговых клеток.

Было проведено клинико-иммунологическое обследование 20 родильниц с септическим процессом, осложненным анемией, до и после трансфузии криоконсервированных аллогенных костномозговых клеток, совместимых в двунаправленной *MLC*, по эритроцитарным *AB* антигенам и *Rh*-фактору. Криоконсервированный костный мозг получали с областной станции переливания крови. Трансфузию костномозговых клеток проводили в количестве 5×10^7 кл/кг массы тела.

Контрольную группу составили 10 родильниц с нормальным течением послеродового периода. Из 20 больных у 10 был метроэндометрит после самопроизвольных родов, у 1 — после операции кесарева сечения, у 9 — сепсис после родов. Возраст 75 % женщин — от 18 до 30 лет. Клиническое течение эндометрита было расценено как средней тяжести. Отмечены субинволюция матки, ее болезненность при пальпации, изменение характера лохий, повышение температуры тела до $38-40^\circ\text{C}$ с ознобами. У больных с сепсисом после родов были отмечены более выраженные симптомы интоксикации. Отмечалась выраженная гипохромная анемия, гемоглобин колебался от 65 до 96 г/л, содержание эритроцитов $2,5-3,3 \times 10^{12}$ кл/л, наблюдались лейкоцитоз со сдвигом формулы влево, увеличение СОЭ до 65 мм/ч. Клинико-иммунологические исследования проводились при поступлении, в процессе лечения, перед выпиской из стационара и у 10 больных через 10—12 мес после миелотрансфузии.

Были изучены показатели *T*- и *B*-звеньев иммунитета: суммарное содержание *T*- и *B*-лимфоцитов (относительное и абсолютное количество по методам Джондала и др., Бианко и др.), содержание *E*_{акт}-РОК и *M*-РОК (по методам Петера и др., Залевски и др.), *T*_μ- и *T*_γ-клеток (по методу Гупта и др.), определены индекс бласттрансформации лимфоцитов на ФГА, количественное содержание иммуноглобулинов *A*, *M*, *G* (по методу Манчини и др.), циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) (по Струкову и др.), антитела в плазме крови с помощью реакции Уанье. У больных были определены иммунорегуляторный индекс (ИИ) на основании содержания *T*_μ-*T*_γ-клеток, индекс соотношения *T/B*-клеток. Статистическая обработка данных проведена на ЭВМ *СМ-1407* по программе *СТ-81* и *СТАФ-123*.

Было установлено, что нормальное течение послеродового периода у родильниц протекает на неизменном иммунологическом фоне (табл. 1, 2).

Иммунологический статус больных с септическими послеродовыми заболеваниями, осложненными анемией, характеризуется: у 70,6 % больных сниженным содержанием суммарных *T*-клеток, у 80 % больных сниженным содержанием *T*_μ-клеток и снижением вследствие этого ИИ до $1,2 \pm \pm 0,06$ у 73,4 % больных. У 66,7 % больных определяется сниженная бласто-

Таблица 1

Показатели Т-системы иммунитета у родильниц с септическими послеродовыми заболеваниями, осложненными анемией, до и после мисотрансфузии

Иммунологический статус больных	Е-РОК, %	Е _{акт} -РОК, %	Т _μ -РОК, %	Т _γ -РОК, %	Индекс стимуляции в РБГ на ФГА	Индекс соотношения Т _μ /Т _γ -клеток	Индекс соотношения Т/В-клеток
До лечения	1	70,60 37,3 < 44,7 < 52,4	52,9 34,1 < 41,3 < 49,0	80,0 19,9 < 22,9 < 28,8	0	66,7 12,1 ± 1,7	73,4 1,2 ± 0,06
	2	29,4 50,9 < 58,6 < 65,8	47,1 27,3 < 33,9 < 41,1	20,0 24,5 < 30,7 < 37,8	100 13,1 < 17,1 < 22,0	33,3 36,2 ± 4,5	26,6 2,3 ± 0,16
После выписки	1	38,9 45,6 < 53,4 < 60,9	55,6 35,0 < 42,3 < 49,9	50,0 19,7 < 26,0 < 31,0	0	57,1 12,4 ± 4,12	11,1 1,6 ± 0,1
	2	61,1 53,7 < 61,3 < 68,2	44,4 20,6 < 26,1 < 32,5	50,0 28,8 < 35,6 < 42,9	100 8,7 < 11,5 < 15,0	42,9 41,9 ± 19,6	88,9 3,0 ± 0,3
Через 10—12 мес		100 53,2 < 61,4 < 67,7	100 25,4 < 31,2 < 36,8	100 27,9 < 34,9 < 42,9	100 14,6 < 18,1 < 24,2	100 42,6 ± 8,7	100 2,4 ± 0,2
Нормальное течение послеродового периода		55,1 < 62,6 < 69,5	26,6 < 33,0 < 40,1	28,9 > 35,7 < 43,1	14,9 < 19,2 < 24,5	38,6 ± 4,1	2,5 ± 0,3

Примечание. 1 — процент больных с показателями Т-системы иммунитета, отличающимися от показателей у родильниц с нормальным течением послеродового периода; 2 — больные с показателями Т-системы иммунитета, равными таковым у родильниц с нормальным течением послеродового периода.

Таблица 2

Показатели В-системы иммунитета у родильниц с септическими послеродовыми заболеваниями, осложненными анемией, до и после миелотрансфузии

Иммунологический статус больных	ЕАС-РОК, %	М-РОК, %	ЦИК, мг/мл	Иммуноглобулины, мг/мл		
				А	М	Г
До лечения						
1	0	40,0 13,2 < 17,2 < 22,1	60,0 3,9 ± 0,43	23,1 2,7 ± 0,47	30,8 2,6 ± 0,29	0
2	100 17,9 < 22,9 < 28,8	60,0 5,7 < 7,7 < 10,2	40,0 1,6 ± 0,2	76,9 1,36 ± 0,2	69,2 1,5 ± 0,12	100 13,27 ± 1,2
Перед выпиской						
1	0	11,1 15,3 < 20,5 < 26,9	82,3 3,5 ± 0,43	45,4 2,36 ± 0,35	25,0 2,01 ± 0,25	0
2	100 16,9 < 21,8 < 27,5	88,9 5,0 < 6,7 < 8,9	17,7 1,58 ± 0,18	54,6 1,47 ± 0,21	75,0 1,23 ± 0,17	100 12,15 ± 1,07
Через 10—12 мес	100 17,8 < 23,6 < 29,8	100 5,2 < 6,9 < 9,1	100 1,65 ± 0,15	100 1,48 ± 0,2	100 1,26 ± 0,1	100 12,5 ± 1,02
Нормальное течение послеродового периода	19,6 < 24,9 < 31,1	5,0 < 6,7 < 9,0	1,6 ± 0,1	1,4 ± 0,15	1,44 ± 0,09	12,2 ± 1,1

Примечание. 1 — процент больных с показателями, отличающимися от таковых у родильниц с нормальным течением послеродового периода; 2 — процент больных с показателями, равными таковым у родильниц с нормальным течением послеродового периода.

трансформирующая способность лимфоцитов на ФГА (табл. 1). В-система иммунитета этих больных характеризуется нормальным содержанием общих В-клеток, повышенным содержанием у 40 % больных М-РОК. У 23,1 % больных определялось повышенное содержание J_gA и у 30,8 % больных J_gM . Содержание J_gG у всех больных соответствовало норме. Индекс соотношения Т/В-клеток у 35 % больных был ниже нормы и составлял $1,5 \pm 0,1$. У 60 % больных определялось повышенное содержание ЦИК (табл. 2).

У больных родильниц после проведения миелотрансфузии на $3,2 \pm 0,6$ день отмечалось клиническое улучшение и нормализация температуры тела. У всех больных отмечено динамическое повышение гемоглобина и эритроцитов. Ежесуточный прирост гемоглобина к моменту выписки из стационара составил $1,73 \pm 0,22$ г/л, эритроцитов — $0,063 \pm 0,013 \times 10^{12}$ кл/л. К моменту выписки из стационара у родильниц абсолютное количество лейкоцитов составило $5,98 \pm 0,23 \times 10^9$ кл/л, лимфоцитов — $2,51 \pm 0,37 \times 10^9$ кл/л. Средняя продолжительность пребывания больных в стационаре составила $16,7 \pm 1,2$ дня.

После миелотрансфузии к моменту выписки у больных наблюдалось повышение содержания общих Т-клеток, которое у 61,1 % больных достигло значений нормы. Содержание T_{μ} -клеток повысилось до нормы у 30 % больных и вследствие повышения содержания этих клеток восстановление ИИ наблюдалось у 62,3 % больных. У 28,9 % больных — нормализовалось содержание М-РОК. Улучшения в содержании иммуноглобулинов А, М и ЦИК после миелотрансфузии не отмечалось. Соотношение Т/В-клеток повысилось до значений нормы у 7 % больных, у остальных приблизилось к таковой (табл. 1,2).

Изучение иммунологического статуса родильниц через 1 мес после миелотрансфузии показало дальнейшее улучшение показателей Т-системы иммунитета. Нормальное содержание Т-клеток определялось у 83 % женщин, бласттрансформирующая способность на ФГА — у 68 %. Однако

при этом у 63 % женщин отмечалась инверсия соотношения T_{μ}/T_{γ} -клеток, которая явилась следствием увеличения содержания T_{γ} -клеток ($22,1 < < 28,0 < 34,2$ %), иммунорегуляторный индекс у этих женщин составил $1,1 \pm 0,2$. У 88,9 % женщин определялось нормальное соотношение T/B -клеток. Обращает на себя внимание то, что в этот период у 60 % женщин определялось повышенное содержание циркулирующих иммунных комплексов ($2,7 \pm 0,31$ мг/мл), а у 30,8 % женщин J_gA ($2,16 \pm 0,34$ мг/мл) и 11,1 % — J_gM ($2,2 \pm 0,24$ мг/мл).

Через 10—12 мес после миелотрансфузии ни у одной из наблюдавшихся женщин рецидивов заболевания не отмечалось, гемоглобин составил $135,3 \pm 8,1$ г/л, эритроциты — $4,4 \pm 0,36 \times 10^{12}$ кл/л, количество лейкоцитов — $6,0 \pm 1,4 \times 10^9$ кл/л, нейтрофилов — $4,7 \pm 0,53 \times 10^9$ кл/л, лимфоцитов — $1,43 \pm 0,12 \times 10^9$ кл/л. Иммунологический статус у этих женщин характеризовался нормальными показателями T - и B -звеньев иммунитета и соответствовал показателям, характерным для родильниц с нормальным течением послеродового периода на 6—8 сут. Антитела в плазме крови к элементам трансфузированного костного мозга, выявляемые через 3 мес после миелотрансфузии в реакции Уанье у 15 % обследованных женщин, к этому сроку не определялись.

Таким образом, установлено, что септические послеродовые заболевания, осложненные анемией, протекают на фоне вторичного иммунодефицита. Проведение миелотрансфузии таким больным способствует динамичному улучшению клинко-иммунологического статуса, стабильному приросту гемоглобина и эритроцитов. Ближайшие и отдаленные результаты свидетельствуют об отсутствии каких-либо нежелательных реакций со стороны организма на миелотрансфузию.

1. Драмлян Т. С. Некоторые особенности анемии при послеродовых и послеабортных септических заболеваниях: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Ереван, 1975. — 56 с.
2. Зак И. Р., Сметуна Ф. А. Послеродовый сепсис // Акушерство и гинекология. — 1986. — № 8. — С. 65—68.
3. Саурбаева Б. Ж., Берникова Р. Г., Миллер Л. Г. и др. К вопросу об особенностях течения послеродовых септических заболеваний // Экстремальные и терминальные состояния. Алма-Ата: Б. и., 1981. — С. 89—92.
4. Чурута В. В. Клинико-иммунологические параллели при нормальном и осложненном железодефицитной анемией течении послеродового периода: Автореф. дис. .. канд. мед. наук. — Ярославль: Б. и., 1983. — 28 с.

Ин-т проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 29.03.88.

УДК 616 — 006 — 053.2/5 — 089 : 615. 832.97

**В. В. Шафранов, Ю. В. Тен, В. Г. Резницкий,
Д. И. Цыганов, В. А. Кожевников**

КОМБИНИРОВАННОЕ МИКРОВОЛНОВОЕ И КРИОВОЗДЕЙСТВИЕ НА БИОТКАНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИКЕ

При лечении злокачественных и доброкачественных новообразований находит применение высокоэффективный щадящий криохирургический метод. Однако опыт криохирургии свидетельствует о том, что возможности низкотемпературного разрушения объемных патологических образований весьма ограничены. Применение достаточно мощных криоаппаратов для деструкции подобных образований также не всегда приводит к успеху. Гибнет поверхностная часть, глубокая продолжает расти. Неудовлетворенность известными способами лечения способствовала поиску новых комби-

нированных методов лечения. В настоящее время актуальным направлением повышения эффективности криохирургического метода лечения является сочетание использования низкотемпературных и других факторов повреждения [3].

На кафедре детской хирургии 2-го МОЛГМИ им. Н. И. Пирогова был разработан в эксперименте способ усиления криодеструкции путем предварительного воздействия на область замораживания микроволнами — сверхвысокочастотным электромагнитным полем (СВЧ ЭМП). Теоретической основой эксперимента послужило изучение действия СВЧ ЭМП на ткани живых организмов. Известно, что вода является основным компонентом всех биологических систем. Существенное значение для объяснения механизмов криоповреждения имеет состояние связанной воды в клеточных и тканевых системах. В частности, если вода находится в связанном состоянии, она вообще может не кристаллизоваться в лед при понижении температуры. При воздействиях, нарушающих «упаковку» воды, может увеличиваться объем, занимаемый водной фазой, что, в свою очередь, приводит к увеличению размеров водной решетки. Приведенные сведения в определенной степени объясняют значительную стойкость тканей к локальному охлаждению. Если же учесть структуру и метаболизм, а также транспортную функцию микроциркуляции, то становится ясным, что разрушение больших объемов тканей криоспособом представляет собой трудную проблему. Для преодоления этого барьера необходимо так изменить состояние тканей, чтобы они стали более чувствительными к низкотемпературному разрушению с сохранением его преимуществ (безболезненность, отсутствие кровотечения, избыточного рубцевания и др.). Влияние СВЧ ЭМП на биоткани неоднозначно, но, по мнению большинства авторов, точкой приложения этого поля являются дипольные структуры, основную часть которых представляет связанная вода [5]. Под влиянием микроволн полярные молекулы приходят в возбужденное состояние, возникают резонансные явления. Возможны также изменение зоны гидратации, разрывы внутримолекулярных связей. Все это дестабилизирует структуру воды, делает ее более подвижной и чувствительной к различным влияниям. Таким образом, воздействие СВЧ ЭМП имеет определенную точку приложения, соответствующую задачам криовоздействия. СВЧ-поле может быть строго локализовано, глубина воздействия регулируется длиной волны с учетом коэффициента ослабления и плотности потока мощности.

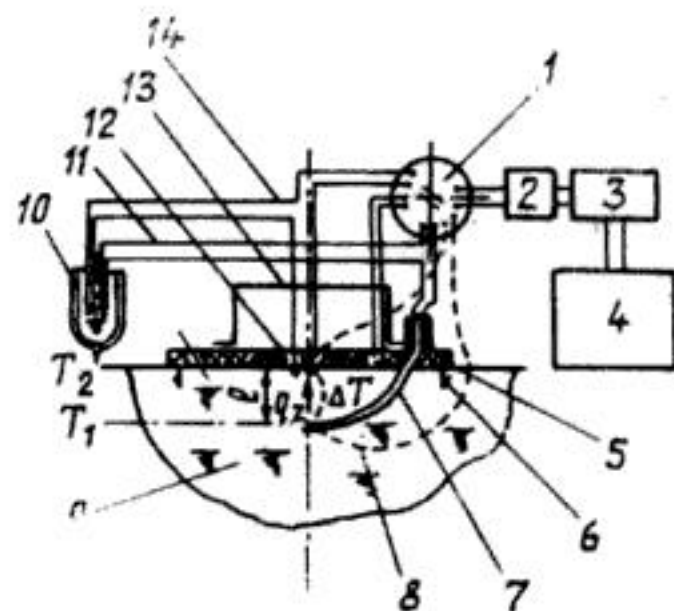
Наш опыт подтверждает положительное влияние СВЧ ЭМП на усиление криодеструкции [4], однако отсутствие четких научно обоснованных режимов СВЧ-воздействия вызывает определенные трудности при практическом их применении.

Целью нашей работы явилось выяснение оптимальных режимов СВЧ-воздействия для достижения максимального крионекроза. Исходя из патогенеза воздействия СВЧ ЭМП на биоткани, мы взяли за основу изучение теплопроводности ткани. Глубина замораживания и, следовательно, глубина крионекроза биоткани в основном определяется ее теплофизическими свойствами (ТФС). Способность биоткани проводить тепло в стационарном режиме характеризуется ее теплопроводностью λ , Вт/(м·К). Чем выше ее значение, тем больше глубина замораживания [1]. Имеющиеся на сегодняшний день вычислительные методы математического прогнозирования температурного поля дают желаемый результат только при условии, что ТФС новообразований *in vivo* известны [6]. Результаты ряда работ говорят о том, что криолечение в каждом отдельном случае является индивидуальным. При одинаковых условиях проведения криовмешательства (равенство температур, времени, скорости охлаждения, геометрии и размеров рабочей части криоинструмента, одинаковых нозологических форм и размеров образований) повторяемость результатов лечения в 50 % случаев не наблюдалась [6]. В первую очередь это объясняется тем, что каждый тип биологической ткани, в целом, и новообразований, в частности, характе-

ризуется своей собственной, строго индивидуальной способностью проводить тепло, что и определяет в конечном итоге эффективность процесса криодеструкции. Учитывая отсутствие литературных данных по теплопроводности биоткани после СВЧ-воздействия, мы провели исследования зависимости λ от времени и параметров СВЧ ЭМП. Объектом исследования явилась печень кроликов, так как по ТФС она ближе стоит к сосудистым опухолям — гемангиомам и, таким образом, является как бы ее моделью [2].

Источником СВЧ ЭМП служил прибор «Плот» (длина волны — 33 см, диаметр излучателя — 3,0 см). Опыты выполнены: 1 — на изолированной ткани печени *in vitro*. Готовились стандартные образцы диаметром 1,5 см и высотой 0,3 см. Облучение образцов проводилось в целлофановых пакетиках (для предупреждения обезвоживания) в 10-минутном интервале времени с дискретностью в 1 мин; мощности облучения 5, 10, 15, 20 Вт. Исследовано 900 образцов. 2. По выяснению следовой реакции СВЧ-воздействия проведено облучение ткани печени кроликов *in vivo*, после чего животные

Рис. 1. Схема экспериментального стенда для измерения эффективной теплопроводности неизолированных биоматериалов с учетом включения кровотока: 1 — двухпозиционный переключатель, 2 — потенциометр, 3 — «0» прибор-гальванометр, 4 — самописец, 5 — диск, 6 — фиксаторы, 7 — направляющая игла, 8 — дифференциальная термопара, измеряющая разность температур ΔT на глубине ткани l , 9 — поверхностный слой биоткани, 10 — сосуд Дьюара, 11, 14 — термопары, измеряющие соответственно температуры T_1 и T_2 , 12 — датчик теплового потока, измеряющий тепловой поток q_Σ , 13 — экран



забивались в интервале времени 30 мин с дискретностью в 5 мин. Прооперировано 42 кролика. Режим СВЧ ЭМП 10 Вт в течение 3 мин (режим выбран на основании 1-й части опыта). Исследовано 680 образцов. Определение λ образцов проводилось на специально модернизированном для измерения биологических тканей приборе, созданном на базе серийно выпускаемого прибора ИТЭМ-1. Проведенные тарировочные измерения на эталонных образцах, аттестованных госстандартом, показали, что погрешность измерения λ не превышает 5 %. 3. На неизолированной ткани печени *in vivo* проведено определение λ на экспериментальном стенде с применением датчиков теплового потока, разработанных и аттестованных в Институте технической теплофизики АН УССР (рис. 1). СВЧ-воздействие мощностями 5, 10, 15, 20 Вт в 10-минутном интервале времени с дискретностью в 1 мин. Прооперировано 32 кролика.

Порядок исследования на экспериментальном стенде: на подготовленной после лапаротомии левой доле печени 9 устанавливали датчик теплового потока 12, закрепленный в прижимном диске 5; на заданную глубину l вводились простая и дифференциальная термопары 11, 14, 8 для измерения ΔT . Измеряемые величины q_Σ , ΔT выводились на приборы типа КСП-4-4. Расчет теплопроводности λ в стационарных условиях проводился по формуле:

$$\lambda = \frac{q_\Sigma \cdot l}{\Delta T}, \text{ Вт (м} \cdot \text{К)}.$$

Контролем служили необлученные образцы печени, а также печень интактного живого кролика (в последнем случае).

Полученные данные представлены на рис. 2, 3, 4. Определение теплопроводности λ *in vitro* (рис. 2) показало, что для достижения большей величины λ , а следовательно, и наибольшего эффекта усиления криодеструкции необходимо СВЧ-воздействие, достаточное по времени и мощности (10 Вт

в течение 3 мин). СВЧ ЭМП мощностью 5 Вт не увеличивает λ до желаемых величин даже через 5 мин, в то время как большие мощности (25 и 20 Вт), обладая преимущественно тепловым эффектом, не обеспечивают повышения λ до необходимого уровня. Определение следовой реакции СВЧ-воздействия (по данным теплопроводности, рис. 3) показало, что последняя сохраняется в пределах 30 мин, причем в первые 5 мин величина λ значительна, а затем идет резкое ее снижение. Таким образом, можно сделать вывод, что наиболее оптимальное время для криовоздействия — непосредственно после облучения СВЧ ЭМП и первые 5 мин после него. Определение теплопроводности λ *in vivo* (рис. 4) показало, что в условиях сохранен-

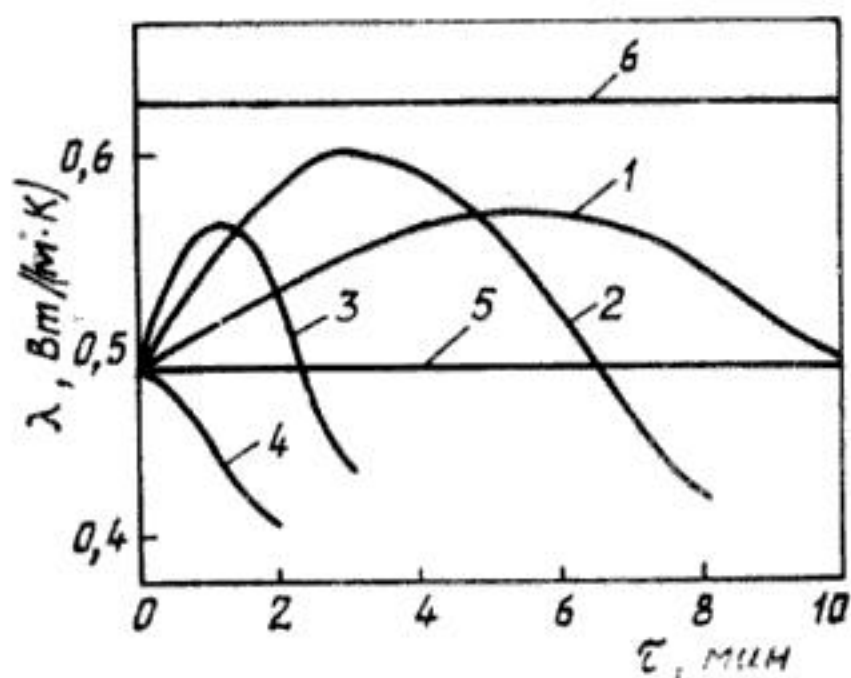


Рис. 2

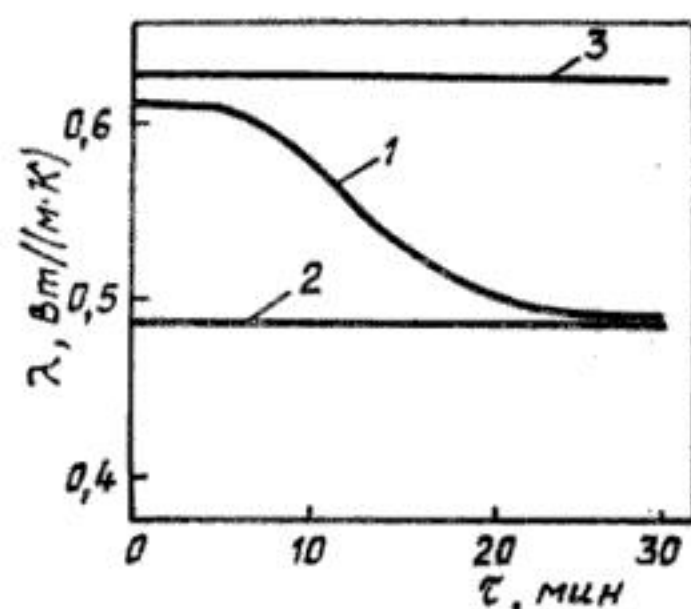


Рис. 3

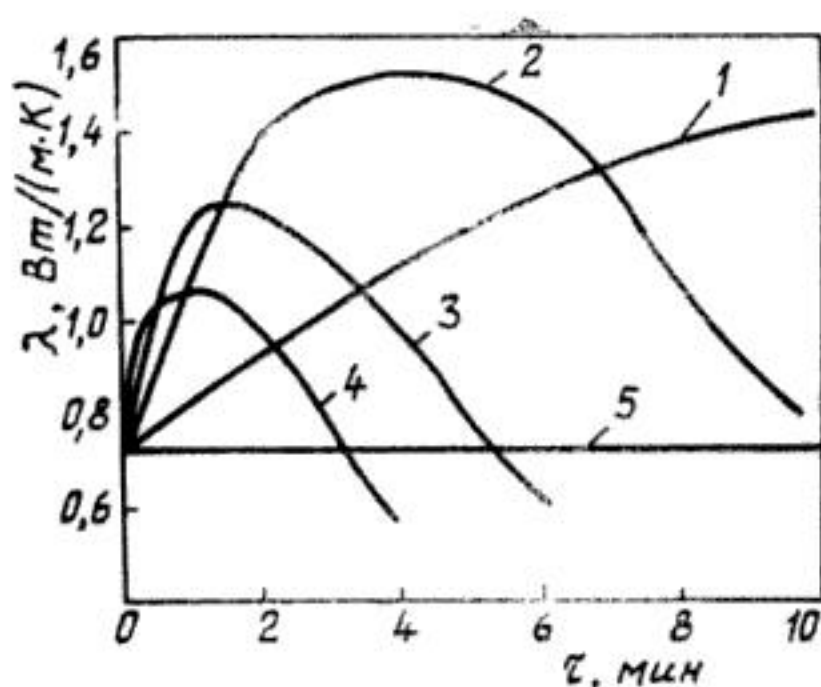


Рис. 4

Рис. 2. Теплопроводность λ печени кролика *in vitro* в зависимости от мощности W и времени τ облучения: 1 — W 5 Вт, 2 — W 10 Вт, 3 — W 15 Вт, 4 — W 20 Вт, 5 — λ печени в норме, 6 — λ воды

Рис. 3. Теплопроводность λ печени кролика в зависимости от времени τ , прошедшего после облучения (СВЧ-воздействие — 10 Вт в течение 3 мин): 1 — λ печени кролика после СВЧ-воздействия, 2 — λ печени кролика в норме, 3 — λ воды

Рис. 4. Теплопроводность λ печени кролика *in vivo* в зависимости от мощности W и времени τ облучения 1 — W 5 Вт, 2 — W 10 Вт, 3 — W 15 Вт, 4 — W 20 Вт, 5 — λ печени в норме

ного кровотока теплопроводность повышается от СВЧ ЭМП гораздо значительнее, чем без него, хотя общие закономерности, характерные для изолированной ткани, сохраняются. Определение λ *in vivo* дает оптимальный режим СВЧ-воздействия 10 Вт в течение 3—5 мин. Таким образом, данные исследований по определению теплопроводности биоткани после облучения микроволнами позволяют рекомендовать научно обоснованные оптимальные режимы СВЧ-воздействия с целью максимального усиления криодеструкции.

Были проведены эксперименты по изучению крионекроза после «чистого» и комбинированного криовоздействия с указанными выше режимами СВЧ ЭМП. Опыты выполнены на печени 30 кроликов. Диаметр охлаждающей головки 0,8 см, температура наконечника — 160 °С, экспозиция 3 мин.

Путем лапаротомии под наркозом обнажалась печень, пузырьная доля которой служила контролем криовоздействия, левая — подопытной. Кроме того, контролем служили интактная печень кроликов, которым была произведена лапаротомия под наркозом без каких-либо воздействий

и левая доля печени, облученная СВЧ-полем, без криовоздействия. В опытной группе осуществляли СВЧ-воздействие (10 Вт в течение 3 мин), после чего выполняли локальное замораживание облученного участка тотчас же (1-я группа), через 5 мин (2-я группа) и через 30 мин после СВЧ-воздействия (3-я группа). Животных забивали через 24,72 ч после операции. Изучалась макро- и микроструктура печени. Целью морфологического изучения явилось определение величины деструкции ткани в зоне указанных факторов, сравнение картины крионекроза с СВЧ-крионекрозом.

Установлено, что животные легко переносили вмешательство, и не было различий в их поведении и в поведении животных, подвергнутых «чистому» криовоздействию, а также животных без какого-либо воздействия. При изучении объема погибшей ткани в результате криовоздействия на печень в контроле наблюдалась обычная картина: зона некроза представляла собой полусферу, диаметр которой в среднем не превышал 1,2 см, а глубина 0,4 см. Подобная же картина отмечена и у животных 2-й группы. В 1-й и 2-й группах зона некроза в диаметре равнялась в среднем 2,0 см, а глубина ее проходила обычно через всю толщу доли и равнялась в среднем 2,5—3,0 см. При расчете объемов некроза, который производился по формуле:

$$V = 1/6\pi \cdot H (H^2 + 3R^2),$$

где V — объем некроза, π — постоянная, равна 3,14, H — глубина некроза, R — радиус некроза, установлено, что величина погибшей ткани в опыте (1-я и 2-я группы) превышает таковую в контроле и в 3-й группе опыта в среднем в 40 раз (лишь по глубине в 6—8 раз). При анализе морфологических данных в контрольных препаратах печени после криовоздействия обнаружен участок тотального, влажного колликвационного некроза с полным разрушением гепатоцитов, сосудов и желчных ходов. В препаратах печени животных после комбинированного СВЧ-криовоздействия картина некроза ничем принципиальным не отличается от «чистого» крионекроза, не считая глубины некротических изменений. В зоне комбинированного воздействия также нет жизнеспособных элементов. Результаты экспериментов позволили сделать вывод, что комбинированное СВЧ-криовоздействие вызывает гораздо большую зону крионекроза, чем «чистое» криовоздействие, причем имеет значение время, прошедшее после СВЧ-облучения. Так, через 30 мин после СВЧ-воздействия не отмечается увеличения зоны крионекроза, в то время как криовоздействие в течение первых 5 мин после облучения микроволнами вызывает значительное увеличение объема погибшей ткани по сравнению с контролем, что подтверждает наши рассуждения о влиянии изменения теплопроводности биоткани в результате СВЧ-облучения на эффективность криодеструкции.

В клинике по указанной методике СВЧ-криодеструкция проведена у 361 больного в возрасте от 2 недель до 66 лет с гемангиомами различной локализации. Показанием к проведению указанного метода лечения служило наличие кавернозных и комбинированных гемангиом с выраженной подкожной частью, чаще сложной локализации, не поддающихся или плохо поддающихся лечению другими способами. Полное излечение достигнуто в 93 % случаев. При лечении больных контрольной группы (61 чел.) только криометодом при тех же размерах гемангиом разрушалась лишь кожная ее часть, а подкожная продолжала расти даже после криовоздействия с экспозицией 5—7 мин.

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. Предварительное СВЧ-воздействие значительно увеличивает объем крионекроза, что позволяет применять данный метод лечения при обширных глубоких новообразованиях, особенно сложной анатомической локализации, когда проведение других методов лечения, в частности хирургического, затруднительно. Морфологически картина СВЧ-крионекроза ничем принципиальным не отличается от картины «чистого» крионекроза, из чего

можно заключить, что микроволны не влияют на положительные стороны криовоздействия.

2. Значительное усиление крионекроза в результате предварительного облучения СВЧ ЭМП можно объяснить, в определенной мере, повышением теплопроводности ткани.

3. Определение теплопроводности ткани после микроволнового воздействия позволяет рекомендовать научно обоснованные оптимальные режимы СВЧ ЭМП для достижения максимального усиления криодеструкции.

1. Демидов Ф. П., Микулин Е. И., Резницкий В. Г., Цыганов Д. И. Устройство для теплопроводящих свойств биоткани // Электронная промышленность.— 1983. Вып. 11.— С. 60—61.
2. Микулин Е. И., Демидов Ф. П., Резницкий В. Г., Цыганов Д. И. Исследование теплопроводности биоткани в области фазовых превращений воды // Холодильная техника.— 1984.— № 4.— С. 34—36.
3. Пушкарь Н. С., Сандомирский Б. П. Теоретические и практические вопросы криохирургии // Криобиология и криомедицина.— 1982.— Вып. 10.— С. 47—58.
4. Шафранов В. В., Резницкий В. Г., Шестиперов В. А. и др. Сочетанное действие СВЧ-электромагнитного поля и локального замораживания на биоткани // Бюл. эксперим. биол. и медицины.— 1983.— № 4.— С. 95—98.
5. Штемлер В. М. Исследование некоторых сторон биологического действия микроволн: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— М., 1974.— 31 с.
6. Bald W. B., Frazer J. Cryogenic surgery // Rep. Prog. Phys.— 1982.— 45. N 10.— P. 1381—1433.

2-й МОЛГМИ им. Н. И. Пирогова,
г. Москва

Поступила 10.10.86

УДК 611 — 018.63.832.9

Ю. В. Загоруйко, Г. Е. Загоруйко, Г. А. Бабийчук

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАРДИОЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ КРАНИОЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Краниocereбральная гипотермия (КЦГ) становится надежным физическим методом поддержания жизнедеятельности организма в различных экстремальных состояниях. Этот вид умеренной локальной гипотермии выполняет защитную функцию во многих опасных для организма ситуациях: при гипоксии, ишемии, отравлениях, черепно-мозговых травмах [1, 3, 5, 6]. В связи с широким применением гипотермии в экспериментальной и клинической кардиологии возникает необходимость в разработке морфометрических критериев оценки кардиозащитных свойств различных режимов КЦГ. В ряде экспериментальных исследований [4, 7] кардиозащитный эффект КЦГ определяют путем визуального сравнения структурной организации миокарда с инфарктным очагом до и после проведения КЦГ. Однако визуальный анализ светооптических и электронно-микроскопических препаратов сердечной мышцы и трактовка результатов эксперимента в значительной мере зависят от квалификации исследователя и поэтому часто субъективны. Многообразие морфологических проявлений КЦГ в экспериментах часто затрудняет проведение дифференциальной диагностики кардиозащитных и повреждающих свойств этого вида локального охлаждения организма. Применение методов стереологического анализа позволяет получить объективную морфометрическую информацию о динамике структурной организации исследуемых биологических объектов. В работе [2] для оценки кардиозащитных свойств КЦГ при тканевой гипоксии определяли объемные доли стромального компонента и капилляров в миокарде, а в кардиомиоцитах — объемные доли миофибрилл, митохондрий,

гистограммы и некоторые другие показатели. Затем сравнивали между собой цифровые значения одинаковых морфометрических параметров структурной организации миокарда при тканевой гипоксии (ТГ), ТГ в сочетании с КЦГ и по приближению цифровых значений количественных показателей к норме судили о наличии или отсутствии кардиозащитного эффекта КЦГ. Следует отметить, что, несмотря на объективизацию результатов исследований, применение многочисленных количественных показателей для характеристики динамики структурной организации сердечной мышцы существенно увеличивает затраты времени на получение морфометрической информации, а последующее попарное сравнение цифровых значений одинаковых стереометрических показателей усложняет процедуру определения эффективности кардиозащитных свойств КЦГ, затрудняет поиск оптимального режима локального охлаждения организма.

Целью работы явилась разработка метода повышения точности способа определения кардиозащитных свойств КЦГ и его упрощение. Поставленная цель достигается тем, что при определении эффективности гипотермической защиты миокарда в условиях воздействия на организм экстремальных факторов среды в серии электронно-микроскопических снимков миокарда левого желудочка животных контрольной группы (воздействие экстремального фактора среды) и животных экспериментальной группы (воздействие экстремального фактора среды + КЦГ) определяют только объемные доли стромального компонента ($V_{\text{стр}}$) и капилляров ($V_{\text{кап}}$), а в кардиомиоцитах — объемную долю митохондрий ($V_{\text{мх}}$). Затем находят отношения: $K_1 = V_{\text{стр}}^{\text{стр}} / V_{\text{стр}}^{\text{эксп}}$, $K_2 = V_{\text{кап}}^{\text{стр}} / V_{\text{кап}}^{\text{эксп}}$, $K_3 = V_{\text{мх}}^{\text{стр}} / V_{\text{мх}}^{\text{эксп}}$ и по результатам полученных данных определяют показатель эффективности гипотермической защиты сердечной мышцы по формуле:

$$B = K_1 \cdot K_2 \cdot K_3,$$

где B — показатель эффективности гипотермической защиты миокарда, усл. ед.; $V_{\text{стр}}^{\text{стр}}$ — объемная доля стромального компонента в миокарде контрольной группы животных, %; $V_{\text{стр}}^{\text{эксп}}$ — объемная доля стромального компонента в миокарде экспериментальной группы животных, %; $V_{\text{кап}}^{\text{стр}}$ — объемная доля капилляров в миокарде контрольной группы животных, %; $V_{\text{кап}}^{\text{эксп}}$ — объемная доля капилляров в миокарде экспериментальной группы животных, %; $V_{\text{мх}}^{\text{стр}}$ — объемная доля митохондрий в кардиомиоцитах контрольной группы животных, %; $V_{\text{мх}}^{\text{эксп}}$ — объемная доля митохондрий в кардиомиоцитах экспериментальной группы животных, %. При значении показателя эффективности гипотермической защиты миокарда (B) больше единицы можно судить о наличии кардиозащитных свойств КЦГ, при значении показателя B меньше единицы — о повреждающем действии КЦГ, при значении показателя B равным единице — об отсутствии кардиозащитного эффекта КЦГ.

В качестве примера приведем результаты морфометрической оценки кардиозащитных свойств КЦГ у животных при тканевой гипоксии (ТГ). Эксперимент проведен на крысах-самцах Вистар в возрасте 2 мес. Первая группа — животные, у которых моделировали ТГ по ранее описанной методике [2]. Вторая группа — животные в состоянии ТГ, которым проводили КЦГ в течение 2 ч при ректальной температуре 31 °С. Третья группа — животные в состоянии ТГ, которым проводили КЦГ в течение 2 ч при ректальной температуре 28 °С. По окончании экспериментов животных декапитировали. Для электронно-микроскопических исследований из левого желудочка сердца крыс иссекали кусочки миокарда и обрабатывали по общепринятым методам. В серии негативов ультратонких срезов миокарда животных с помощью точечной тест-системы ($N_0 = 384$) определяли: объемные доли стромального компонента и капилляров, в кардиомиоцитах —

Характеристика условий эксперимента

Стереометрические показатели	Условия опытов		
	ТГ 37 °С	ТГ + КЦГ 31 °С	ТГ + КЦГ 28 °С
Объемная доля стромального компонента миокарда, %	27,00± ±0,50	25,50± ±0,50	24,00± ±0,50
Объемная доля капилляров в миокарде, %	5,00± ±0,30	5,20± ±0,30	5,60± ±0,30
Объемная доля митохондрий в кардиомиоцитах, %	42,00± ±0,20	40,50± ±0,20	39,50± ±0,20
Показатель эффективности гипотермической защиты миокарда	1	1,14	1,34

способа определения кардиозащитных свойств КЦГ достигается путем определения одного интегрального показателя эффективности гипотермической защиты миокарда (В). Это позволяет объективно оценивать и сравнивать между собой эффективность различных режимов локального охлаждения организма с помощью КЦГ и выбирать наиболее оптимальный.

1. Бабийчук Г. А. Механизмы нейрохимических и патофизиологических процессов в организме животных при краниocereбральной гипотермии: — Автореф. дис. д-ра биол. наук.— Харьков, 1986.— 33 с.
2. Загоруйко Ю. В., Загоруйко Г. Е., Бабийчук Г. А. Влияние гипоксии и краниocereбральной гипотермии на ультраструктуру миокарда белых крыс // Кробиология.— 1987.— № 1.— С. 32—38.
3. Кошнев С. Н. Краниocereбральная гипотермия в акушерстве.— М.: Медицина, 1985.— 111 с.
4. Малая Л. Т., Пушкарь Н. С., Яковцова А. Ф. Структурно-функциональные изменения миокарда при экспериментальном инфаркте и краниocereбральной гипотермии // Кробиология и криомедицина.— 1983.— Вып. 11.— С. 74—80.
5. Мешалкин Е. Н., Вережагин И. П. Оклюзии в условиях неглубокой гипотермической защиты.— Новосибирск: Наука, 1985.— 197 с.
6. Сумбатов Л. А. Искусственная гипотермия.— М.: Медицина, 1985.— 84 с.
7. Яковцова А. Ф., Гейко Д. Е., Питенько Н. Н. и др. Морфология миокарда и внутренних органов при моделировании инфаркта миокарда и применении краниocereбральной гипотермии. Сообщение 2 // Актуальные проблемы кардиологии.— Харьков: Б. и., 1981.— С. 145—147.

Харьковский НИИ терапии,
Ин-т проблем кробиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 30.09.87

объемную долю митохондрий. Цифровые значения стереометрических показателей структурной организации миокарда животных в проведенном эксперименте представлены в таблице. Как следует из приведенных данных, показатель эффективности гипотермической защиты миокарда (В) в третьей экспериментальной группе животных больше, чем во второй. Это свидетельствует о том, что в условиях ТГ при ректальной температуре 28 °С кардиозащитный эффект КЦГ почти в 1,2 раза выше, чем при ректальной температуре 31 °С.

Таким образом, предлагаемый способ оказывается менее трудоемким по сравнению с вышеизложенным, так как определение эффективности гипотермической защиты миокарда базируется на данных только 3 стереометрических показателей, характеризующих тканевой и клеточный уровни организации сердечной мышцы. Повышение точности спо-

**А. И. Миляновский, А. Я. Сенчук, В. М. Гордиенко,
С. А. Лихторович**

ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА В ПРОЦЕССЕ КРИОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ПРЕДОПУХОЛЕВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ШЕЙКИ МАТКИ

Несмотря на достигнутые успехи в лечении заболеваний шейки матки, рак данной локализации продолжает занимать первое место среди всех злокачественных опухолей, встречающихся у женщин [3]. По данным ряда авторов, частота выявления рака шейки матки колеблется от 21,7 до 41,4 на 100000 населения [2]. В связи с этим перед практическим здравоохранением возникает задача широкого внедрения профилактических мероприятий, заключающихся прежде всего в диагностике, а также своевременном адекватном лечении предопухолевых заболеваний. Особое значение при этом приобретает выявление и лечение предраковых заболеваний шейки матки. Выбор метода лечения этих заболеваний основан на клинических, эндоскопических и морфологических данных, указывающих на характер и тяжесть процесса. При этом необходимо учитывать данные ряда дополнительных лабораторных методов исследования, свидетельствующих о состоянии иммунной системы больных.

По мнению авторов [1], иммунодефицитные состояния в организме больных развиваются еще задолго до появления раковой опухоли и являются обязательным его условием. В связи с этим представляется важным проводить иммунологические исследования у лиц с предраковыми состояниями, причем как до, так и после лечения.

Нами проведено обследование 45 больных с предопухолевыми заболеваниями шейки матки, которых лечили методом криодеструкции. Для криовоздействия использовалась установка «Криоэлектроника-4».

Показатели клеточно-опосредованного противоопухолевого иммунитета определяли по методу [4] до и после криохирургического лечения. Метод позволяет установить на одном морфологическом препарате количество Т-, В-, Д-розеткообразующих лимфоцитов (Т-, В-, Д-РОЛ), нулевых и «неполных» лимфоцитов в периферической крови. Контролем служили данные обследования 25 здоровых женщин. Результаты исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием критериев Стьюдента.

Определение количества лимфоцитов в периферической крови после криохирургического лечения производилось через 2 недели, когда, по нашему мнению, уже успевают произойти иммунологические сдвиги после воздействия холодом и гибели диспластических клеток. Эти же исследования, проведенные через 3—4 мес, могут быть использованы как критерий эффективности терапии и для отдаленного прогноза заболевания.

Данные о содержании различных популяций лимфоцитов в периферической крови больных предопухолевыми заболеваниями шейки матки представлены в таблице. Изменения в системе клеточно-опосредованного противоопухолевого иммунитета выявлены у 80 % обследованных нами больных, а средние показатели рассчитывались для всей группы больных. Общее количество циркулирующих в крови лимфоцитов у больных с дисплазиями шейки матки несколько повышено ($P > 0,05$), отмечается снижение процентного содержания Т-РОЛ до $44,8 \pm 1,1 \%$, различия с показателями в контрольной группе статистически достоверны ($P < 0,05$), (табл.). Достоверных различий абсолютных количеств Т-РОЛ в обеих группах не отмечено.

Относительное и абсолютное ($1 \times 10^9/\text{л}$) содержание лимфоцитов в крови больных дисплазиями шейки матки в процессе криохирургического лечения и здоровых женщин ($M \pm m$)

Обследуемая группа	Всего лимфоцитов	Т-РОЛ	В-РОЛ	Д-РОЛ	Нулевые лимфоциты	«Неполные» лимфоциты	Коэффициент Т : В
Здоровые (контроль) $n = 25$	$1,85 \pm 0,07$	$\frac{53,6 \pm 2,3}{0,99 \pm 0,05}$	$\frac{13,2 \pm 0,8}{0,24 \pm 0,02}$	$\frac{1,1 \pm 0,3}{0,02 \pm 0,005}$	$\frac{14,8 \pm 0,7}{0,28 \pm 0,02}$	$\frac{17,4 \pm 1,1}{0,32 \pm 0,02}$	$4,1 \pm 0,1$
Больные $n = 45$	$1,99 \pm 0,04$	$\frac{44,8 \pm 1,1^*}{0,89 \pm 0,04}$	$\frac{11,8 \pm 0,5}{0,23 \pm 0,009}$	$\frac{1,6 \pm 0,8}{0,03 \pm 0,003}$	$\frac{16,1 \pm 0,3}{0,33 \pm 0,01}$	$\frac{25,5 \pm 0,81}{0,49 \pm 0,02}$	$3,8 \pm 0,1$
Через 2 недели после криовоздействия $n = 45$	$1,95 \pm 0,08$	$\frac{47,4 \pm 3,1}{0,92 \pm 0,07}$	$\frac{10,8 \pm 0,5}{0,2 \pm 0,02}$	$\frac{0,9 \pm 0,3}{0,02 \pm 0,005}$	$\frac{14,9 \pm 1,3}{0,29 \pm 0,03}$	$\frac{26,1 \pm 1,8}{0,51 \pm 0,04}$	$4,4 \pm 0,2$
Излеченные после криовоздействия $n = 43$	$1,94 \pm 0,09$	$\frac{52,6 \pm 4,2^{**}}{1,02 \pm 0,06}$	$\frac{10,6 \pm 0,8}{0,2 \pm 0,01}$	$\frac{1,4 \pm 0,3}{0,03 \pm 0,004}$	$\frac{14,6 \pm 1,4}{0,27 \pm 0,02}$	$\frac{21,1 \pm 2,1}{0,42 \pm 0,03}$	$5,0 \pm 0,1$

Примечание. * — Достоверное отличие ($P < 0,05$) от соответствующего показателя в контрольной группе, ** — достоверное отличие ($P < 0,05$) от соответствующего показателя в группе больных.

Нормальное содержание лимфоцитов в периферической крови при отмеченном недостоверном снижении абсолютного количества Т- и В-РОЛ поддерживается за счет возрастания числа клеток, рецепторы которых способны присоединить лишь 1—2 индикаторные частицы («неполные» лимфоциты). Количество этих клеток увеличивалось с $17,4 \pm 1,1 \%$ до $25,5 \pm 0,9 \%$ ($P < 0,001$). Установлено, что абсолютное количество лимфоцитов в крови больных дисплазиями эпителия шейки матки значительно увеличивается вследствие повышения числа «неполных» лимфоцитов.

При предраковых заболеваниях шейки матки в основном наблюдается снижение коэффициента Т>В-лимфоцитов в периферической крови больных до $3,8 \pm 0,1$, в то время как в контроле он составлял $4,1 \pm 0,1$. Различия коэффициентов статистически недостоверны, однако это может указывать на преимущественное угнетение при данной патологии системы Т-клеточного иммунитета.

Таким образом, при предраковых заболеваниях шейки матки развиваются нарушения звеньев иммунной системы. Прежде всего появляются изменения в популяции Т-лимфоцитов. Сдвиги в популяциях лимфоцитов характеризуются увеличением числа «неполных» лимфоцитов, что может свидетельствовать о блокировке рецепторов или замедлении дифференцировки Т-клеток и о выраженности компенсаторных механизмов.

Сравнивая данные о количестве Т-РОЛ у больных с предопухолевыми заболеваниями шейки матки ($44,8 \pm 1,1 \%$) и полученные через 2 недели после криохирургического лечения ($47,4 \pm 3,1 \%$), мы видим некоторый рост количества Т РОЛ ($P > 0,05$), что следует расценивать как положительный эффект, который является, очевидно, результатом воздействия холодового фактора на организм и изменений, происходящих в очаге крионекроза. Отсутствие достоверных изменений количества В- и Д-РОЛ указывает на то, что криовоздействие не оказывает отрицательного влияния на показатели клеточно-опосредованного иммунитета и организм больных.

При анализе результатов иммунологического исследования, проведенного через 3—4 мес после криохирургического лечения, обращают на

себя внимание показатели Т-РОЛ, количество которых достигало значений в контрольной группе (табл.). То же самое можно сказать и о показателях В-, Д-РОЛ и «неполных» лимфоцитов. Значительно увеличился коэффициент Т : В — через 2 недели после лечения он составил $4,3 \pm 0,2$, а через 3—4 мес он становится равным уже $5,0 \pm 0,1$, в то время как в группе больных с предопухолевыми заболеваниями шейки матки этот коэффициент составил $3,8 \pm 0,1$. Следует отметить, что показатели 0-лимфоцитов во всех исследуемых группах не изменялись.

Таким образом, проведенные нами исследования показывают, что в процессе криохирургического лечения дисплазий шейки матки наблюдается иммуномодулирующий эффект, проявляющийся в увеличении количества Т-РОЛ и уменьшении числа «неполных» лимфоцитов. Возникает вопрос, каковы же механизмы наблюдаемого нами эффекта. Можно думать, что холодовый фактор вызывает сдвиги в иммунологических реакциях в результате ликвидации очага дисплазии. С другой стороны, криодеструкция вызывает появление очага крионекроза тканей, являющегося возможным источником антигенов, стимулирующих иммунную систему больных. Следовательно, возникающие сдвиги в показателях популяций лимфоцитов могут явиться результатом влияния отмеченных нами двух факторов.

Данные наших исследований подтверждают участие иммунной системы в патогенезе злокачественного роста. В связи с этим является целесообразным осуществлять иммунологический подход при формировании групп больных с предраковыми заболеваниями и повышенным риском, которые нуждаются в дифференцированном лечении и систематическом наблюдении. В эту группу следует отнести лиц, у которых наблюдается снижение иммунных реакций, прежде всего, клеточного типа.

1. Гриневич Ю. А., Каменец Л. Я. Основы клинической иммунологии опухолей.— Киев: Здоров'я, 1986.— 159 с.
2. Мерабишвили В. М., Бохман Я. В. Заболеваемость и смертность населения СССР от рака шейки матки // Вопросы онкологии.— 1981.— 27, № 3.— С. 8—12.
3. Штраус З. Э. Злокачественные новообразования шейки матки // Рак в крупных городах стран — членов СЭВ / Под ред. А. В. Чаклина, З. Э. Штраус, И. Плешко.— Издательство Освета; СССР, 1986.— С. 144—146.
4. Mendes V. F., Miki S., Peixinho Z. E. Combined defection of human T- and B-lymphocytes by rosette formation with Slup eritrozytes and zimosan — C_3 complex // J. immunol.— 1974.— 133.— P. 531—536.

Киевский мед. ин-т
им. акад. А. А. Богомольца

Поступила 07.05.87

УДК 616.351—089—032 : 611.351 : 615.832.98

**Ю. В. Балтайтис, А. Я. Яремчук, В. Б. Короленко,
В. Н. Мальцев**

ЛОКАЛЬНАЯ ГИПОТЕРМИЯ В ЛЕЧЕНИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРЯМОЙ КИШКИ

Несмотря на широкое применение локальной гипотермии для лечения различных заболеваний [1—5] в настоящее время еще недостаточно точно определены показания и противопоказания к применению этого лечебного фактора в проктологии, не исследованы местные и общие реакции организма при гипотермии на ткани прямой кишки при различных ее заболеваниях и в послеоперационном периоде. Нами изучено в эксперименте воздействие управляемой локальной гипотермии прямой кишки на течение в ней послеоперационного воспалительного процесса. Для этой цели использовался радиоактивный фосфор, так как клетки воспалительного очага имеют повы-

шенную способность накапливать этот радионуклид вследствие усиления их метаболической активности.

Исследования проводились на 12 беспородных собаках обоего пола массой от 16 до 21 кг, которых разделили на 3 группы по 4 животных в каждой. 1-я группа служила контролем и оперативному вмешательству не подвергалась; животным 2-й группы проводилось удаление геморроидальных вен без последующей гипотермии и 3-й — спустя 24 ч после удаления геморроидальных вен проводилась локальная гипотермия прямой кишки. Выраженность воспалительного процесса в прямой кишке после геморроидэктомии измеряли методом радиоактивной индикации с использованием радиоактивного фосфора ^{32}P в виде водного раствора Na_2HPO_4 , который вводили собакам внутрибрюшинно из расчета 1 МБк/кг. Подсчет радиоактивности проводили у интактных и оперированных животных, определяя накопление ^{32}P в крови и слизисто-подслизистом слое ткани прямой кишки с помощью счетчика ядерного излучения Т-25-БФЛ на радиометре ДП-100 «Тобол». Программа после исследований включала изучение распределения ^{32}P в тканях прямой кишки интактных животных, которым было произведено иссечение геморроидальных вен, т. е. в условиях развития послеоперационного воспаления, а также животных, которым после оперативного вмешательства была применена локальная гипотермия прямой кишки.

Изучение накопления ^{32}P проводили в одни и те же сроки во всех 3 группах. Под внутривенным тиопенталовым наркозом собакам 2-й и 3-й групп проводилось иссечение геморроидальных вен по Миллиган-Моргану с ушиванием слизистой прямой кишки. Затем собакам всех групп одновременно внутрибрюшинно вводился радиоактивный фосфор. Через 24 ч после операции собакам 3-й группы проводилась локальная гипотермия прямой кишки при температуре аппликатора $2 \pm 2,0^\circ\text{C}$ в течение 20 мин. Спустя 1 ч после этого у собак всех 3 групп брали кровь из вены (100 мг) и иссекали участок слизисто-подслизистого слоя прямой кишки. Включение ^{32}P в ткань прямой кишки (из расчета на 100 мг ткани) производили по отношению к накоплению ^{32}P в 100 мг крови, т. е. изучали процент включения ^{32}P в ткань прямой кишки, или относительную радиоактивность (табл.).

Данные об относительной радиоактивности у экспериментальных животных

Накопление ^{32}P	Группы животных		
	первая (контрольная)	вторая (операция без гипотермии)	третья (операция с гипотермией)
Через 24 ч после операции			
В крови, имп/мин	148,75 $\pm$ 8,97	419,25 $\pm$ 12,03	403,50 $\pm$ 13,66
В ткани прямой кишки, имп/мин	213,50 $\pm$ 8,57	1258,0 $\pm$ 58,59	556,0 $\pm$ 10,46
Относительная радиоактив- ность, %	144,1 $\pm$ 0,6	299,6 $\pm$ 0,36	138,0 $\pm$ 0,4
Через 48 ч после операции			
В крови, имп/мин	119,0 $\pm$ 11,92	101,75 $\pm$ 9,98	250,25 $\pm$ 7,70
В ткани прямой кишки, имп/мин	176,75 $\pm$ 11,27	612,75 $\pm$ 11,52	741,74 $\pm$ 16,09
Относительная радиоактив- ность, %	263,3 $\pm$ 0,5	621,9 $\pm$ 0,4	296,40 $\pm$ 0,1

Примечание. $P = 0,05$

Данные экспериментальных исследований показывают, что локальная гипотермия прямой кишки оказывает выраженное противовоспалительное

действие, уменьшая относительную радиоактивность более чем в 2 раза. Причем эффект локальной гипотермии сохраняется и на 2-е сут, а степень выраженности воспаления при изучении включения в ткань ^{32}P была достоверно ниже у собак 3-й группы по отношению ко 2-й.

Результаты этих исследований послужили основанием для применения управляемой локальной гипотермии в клинике после операций на прямой кишке. Локальную гипотермию прямой кишки применили в послеоперационном периоде у 174 больных после различных промежностных операций (иссечение острого геморроя — 74 больных, иссечение хронического геморроя — 58 больных, иссечение трещин анального канала — 23 больных, иссечение свищей прямой кишки — 11 больных, удаление анальных папилломполипов анального канала — 6 больных, после ликвидации стриктуры прямой кишки — 2 больных). Для проведения гипотермии использовали термоэлектрическую установку «Ярослава» по следующей методике: через 12—18 ч после оперативного вмешательства в прямую кишку на глубину 4—6 см вводили предварительно обработанный мазью аппликатор диаметром 1,0—1,5 см, длиной 8 см, соединенный с регулируемым источником холода. Гипотермию проводили при температуре аппликатора $2 \pm 2,0^\circ\text{C}$ в течение 20 мин; через 5—7 мин болевой синдром в прямой кишке уменьшался, а через 15—20 мин полностью исчезал почти у всех больных. Затем аппарат переключался на прогревание аппликатора до температуры $38 \pm 2,0^\circ\text{C}$ в течение 10 мин. Уже после одного сеанса гипотермии у больных исчезали боли в прямой кишке, не требовалось введение анальгетиков и наркотических препаратов, акт дефекации протекал практически безболезненно. У данной группы больных ни разу не возникало осложнений, связанных с воспалительными заболеваниями мочевыводящих путей. Применение локальной гипотермии в послеоперационном периоде у больных, оперированных по поводу различных форм геморроя, позволило снизить послеоперационный койко-день с 9,1 до 3,1, у больных после иссечения трещин анального канала — с 7,2 до 2,8.

У 43 больных с помощью локальной гипотермии прямой кишки проведено амбулаторное консервативное лечение следующих заболеваний: анальный зуд — у 9; прокталгия — у 14; хронические трещины, сфинктериты — у 8; проктиты — у 12 больных. Курс лечения составил 10 сеансов локальной гипотермии. При прокталгии и проктитах гипотермию прямой кишки проводили при температуре аппликатора $7 \pm 2,0^\circ\text{C}$ в течение 5 мин с последующим прогреванием до температуры аппликатора $38 \pm 2,0^\circ\text{C}$ в течение 4 мин. Цикл повторяли трижды. Через 3—4 сеанса отмечалось уменьшение болей в прямой кишке, после 6—7 сеансов все больные полностью прекращали принимать анальгетики и седативные препараты, без которых до лечения не могли обходиться. При контрольной ректороманоскопии явления проктита к концу лечения полностью проходили. При хронических трещинах, сфинктеритах локальную гипотермию прямой кишки проводили при температуре аппликатора $0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ в течение 5 мин с последующим прогреванием аппликатора до $38 \pm 2,0^\circ\text{C}$. Цикл повторяли 4—3 раза. У всех больных получен хороший результат лечения. При анальном зуде гипотермию прямой кишки проводили при температуре аппликатора $2 \pm 2,0^\circ\text{C}$ в течение 15 мин. Из 9 больных у 8 зуд полностью исчез. Осложнений после применения гипотермии прямой кишки не наблюдалось.

Учитывая хорошие результаты применения локальной гипотермии при амбулаторном и стационарном лечении больных с заболеваниями прямой кишки, можно рекомендовать использование этого метода в лечебно-профилактических учреждениях.

1. Головина Е. П. Терапевтическое значение местного охлаждения при воспалении в мягких тканях: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Л., 1958. — 20 с.
2. Химич А. И. Применение местной гипотермии при лечении острых одонтогенных лимфаденитов / Здоровоохранение Казахстана: — 1968. — № 9. — С. 56—57.
3. Мешелевич А. В. Местная гипотермия как фактор стимуляции репаративных про-

- цессов в гнойной ране // Матер. VIII научной сессии Гродненского мед. ин-та. — Полымя, 1971. — С. 117—118.
4. Грохольский А. П., Матюшко Р. П., Рубан А. И. Влияние местной гипотермии на проницаемость сосудов пародонта // Стоматология. — 1984. — № 4. — С. 10—12.
5. Kresse H., Schmid F., Geiger S. Neuartige postoperative Kältetherapie // Biomedizinische Technik. — 1975. — 20, N 2. — S. 59—62.

Киевский мед. ин-т
им. акад. А. А. Богомольца

Поступила 30.06.86

УДК 616.342—002.44—089 : 615.832.5

**Е. Д. Хворостов, Б. П. Сандомирский,
А. Я. Синельников, В. М. Лебедь**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ КРИОВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИ СЕЛЕКТИВНОЙ ПРОКСИМАЛЬНОЙ ВАГОТОМИИ

Селективная проксимальная ваготомия (СПВ), являющаяся методом выбора в лечении больных язвенной болезнью 12-перстной кишки, как наиболее щадящая операция, способствовала снижению летальности, уменьшению числа послеоперационных осложнений и улучшению отдаленных результатов хирургического лечения у больных. К негативным проявлениям операции относятся случаи некроза стенки желудка, поскольку в процессе проведения традиционной СПВ пересекаются все экстраорганные сосуды желудка [1—3].

Целью работы явилось обеспечение радикальной расширенной СПВ путем денервации желудка по большой и малой кривизне методом криодеструкции с сохранением сосудов, питающих стенку желудка.

Исследование проведено на 10 беспородных собаках и 32 кроликах породы шиншилла. Под внутривенным тиопенталовым наркозом после срединной лапаротомии при помощи специального криозажима замораживали ткани большого и малого сальника непосредственно у стенки желудка на 3 мин при температуре—170÷—180 °С.

Дополнительно у 20 кроликов под наркозом после рассечения кожи на внутренней поверхности бедра выделяли сосудисто-нервный пучок и замораживали его в течение 3 мин аппликатором диаметром 10 мм с температурой —170÷—180 °С.

Непосредственно после операции, через 14 сут, 1, 3, 6, 12 и 18 мес после криовоздействия под наркозом производили забор нервно-сосудистого комплекса желудочно-ободочной связки и малого сальника, бедренного нерва, а также слизистой оболочки желудка.

Контролем служили участки малого и большого сальника вне зоны криовоздействия, слизистая оболочка желудка до криовоздействия и сосудисто-нервный комплекс здорового бедра кролика.

Материал фиксировался в 10 %-ном нейтральном формалине и формалине забуференном по Лилли при pH 7,4. Парафиновые срезы, полученные при стандартной проводке, окрашивались гематоксилином и эозином по Вейгерту с докраской пикрофуксином по Ван-Гизон, Массону муцикармином. Кроме того, производились постановка ШИК (PAS)-реакции на гликозаминогликаны и реакция Браше на РНК с постановкой соответствующего контроля. Часть объектов обрабатывалась на замораживающем микротоме, срезы, полученные при этом, окрашивались смесью судан III + IV, нервные волокна импрегнировались по Бильшовскому-Гросс, Рассказовой, Кахалю.

В нервных элементах во все сроки исследования наблюдаются изменения как в месте криовоздействия, так и в центральном и периферическом отделах нерва. В центральном участке нерва изменения характеризуются

различного вида реактивными процессами в виде участков гиперимпрегнации, натеков нейроплазмы, очаговой фрагментацией осевых цилиндров. Патогномичным симптомом является отек, возникающий в зоне криовоздействия и прилежащих отделах нерва и периневрия, выраженность которого наибольшая в зоне контакта нерва с охлаждающим устройством. Проявление реактивных изменений связано в основном со сроками послеоперационного периода: до 14 сут сохраняется отек, а спустя месяц — наблюдается демиелинизация. Изменения в центральном отделе нерва нормализуются к 3 мес.

Наиболее выраженные изменения в нерве происходят в зоне локального дозированного криовоздействия. Непосредственно после криовоздействия во всех составных частях нерва определяются выраженные изменения. Нервная ткань теряет способность импрегнироваться азотнокислым серебром и ее волокна становятся плохо различимыми на фоне отека



Рис. 1. Место локального дозированного криовоздействия. Деструктивные изменения компонентов нервного ствола на фоне отека. Импрегнация по Кахалю. X210



Рис. 2. Дистальный участок бедренного нерва. 1/2 мес после криовоздействия. Распад осевых цилиндров, ваалеровское перерождение. Импрегнация по Кахалю. X210

(рис. 1.). Через 14 сут отек уменьшается, и на месте криовоздействия выявляются внутриклеточные (появление липофагов) и в меньшей части внеклеточные суданофильные гранулы. В более поздние сроки в зону криовоздействия врастают вновь образованные сосуды и начинается формирование фиброзного рубца, завершающееся через 3 мес с момента криовоздействия.

Изменения в дистальном (периферическом) отделе нерва обнаруживались во все сроки проведения эксперимента. В ранние сроки после криовоздействия определяются дистрофические, а затем и деструктивные изменения в осевых цилиндрах и мягкотных оболочках.

Через 14 сут в дистальном участке нерва определяется выраженная картина глыбчатого распада (ваалеровского перерождения) с потерей элементами осевых цилиндров способности импрегнироваться азотнокислым серебром (рис. 2.). В более поздние сроки на месте миелиновой оболочки и осевого цилиндра в большом количестве начинают выявляться суданофильные гранулы и к концу 1 мес их количество достигает максимума. В эти же сроки по периферии дистального участка определяется большое количество липофагов с вращением сосудистых почек, появлением клеточного инфильтрата, состоящего из полинуклеаров, макрофагов, лимфоцитов, гистиоцитов и единичных фибробластов. В сроки 3—6 мес клеточный состав инфильтрата меняется — лейкоциты исчезают, появляется большое количество фибробластов и единичные гигантские клетки типа Тюттона. Неспецифическая гигантоклеточная реакция определяется и в более поздние сроки, когда на месте дистального участка нерва формируется продольный соединительнотканый рубец.

Изменения в сосудах носили полиморфный характер. Через 14 сут и в сроки до 1 мес в стенках артерий определяется выраженная круглоклеточная инфильтрация, захватывающая и околососудистую клетчатку. В дальнейшем определяются выраженные повреждения интимы с формированием истинных аневризм. Спустя 6—9 мес на их месте определяются тромбы с неспецифической реакцией со стороны интимы и мышечного слоя сосуда. В венах обнаружены фибрино-лейкоцитарные тромбы без существенных изменений со стороны сосудистой стенки.

Через 6 мес в артериях восстанавливается кровоток, а в венах этот процесс завершается к 18 мес.

В слизистой оболочке желудка через 1 мес после крионейротомии выявляются дистрофические процессы в покровном эпителии с инфильтрацией собственного слоя слизистой. В эти сроки в части наблюдений определялось укорочение или удлинение желудочных ямок (рис. 3).

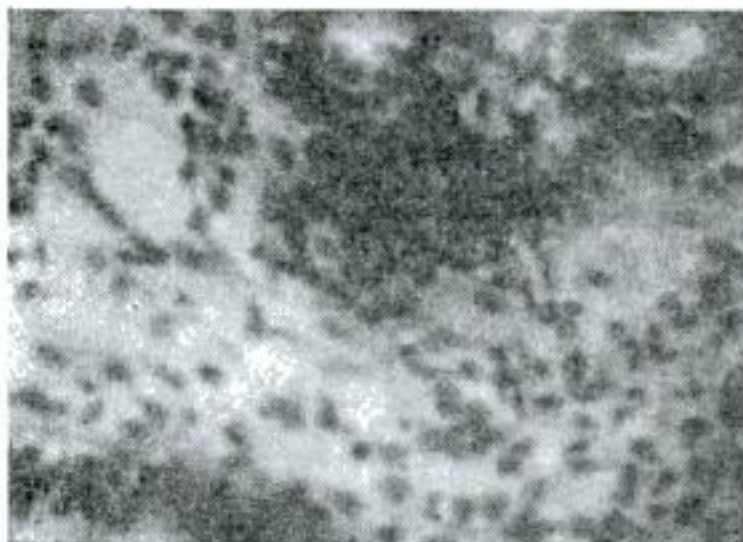


Рис. 3. Слизистая антрального отдела желудка. 1 мес после криоденервации. Уменьшение количества обкладочных клеток. Окраска муцикармином. X420

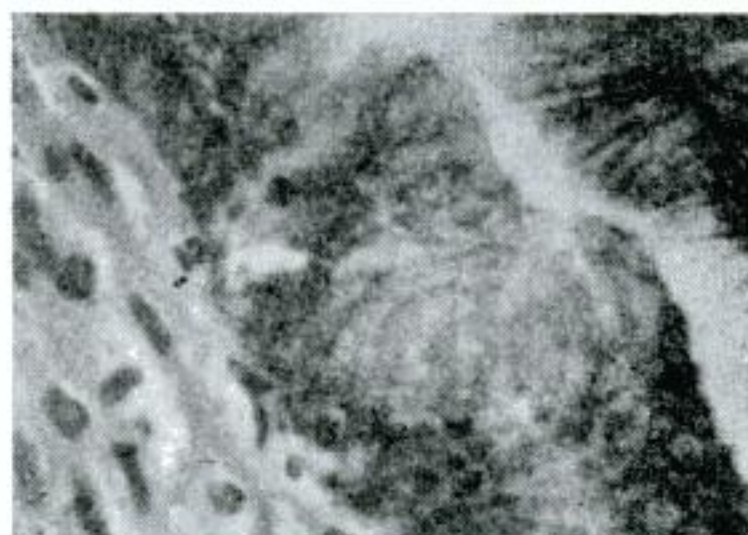


Рис. 4. Слизистая пилорического отдела желудка. 3 мес после криоденервации. Кишечная метаплазия с появлением бокаловидных клеток. Окраска муцикармином. X250

Спустя 3 мес в собственном слое слизистой определяется выраженная инфильтрация: в поле зрения много лимфоцитов, гистиоцитов и тучных клеток. Наиболее выраженная инфильтрация определяется по периферии желез, в которых были отмечены дистрофические процессы в виде различных клеточных диспротеинозов. Через 6 мес в инфильтрате увеличивается число плазматических клеток, а в части полей зрения определяется ослизнение клеток желез в фундальном отделе (рис. 4).

В сроки 9 мес в слизистой определяются явления атрофии за счет всех ее слоев. В фундальном отделе и в незначительном количестве в кардиальном появляются кистовидно-расширенные железы с уплощенным эпителием в них и большим количеством слабо PAS-положительной слизи в просвете. В некоторых железах резко снижено количество обкладочных клеток, эпителий таких желез представлен в основном добавочными клетками. При импрегнации слизистой желудка определяется небольшое количество аргирофильных клеток.

Через 12 и 18 мес в слизистой желудка определяются выраженные дисрегенераторные процессы с очаговой гиперплазией слизистой в виде полипоза или аденоматоза, а также появляется большое количество энтероцитов.

Таким образом, после избирательной денервации желудка с применением аппликационного криовоздействия в сосудисто-нервных элементах вначале возникают деструктивные, а затем и склеротические процессы с формированием фиброзного рубца без явлений регенерации. В мелких и более крупных сосудах после криовоздействий формируются тромбы, которые в последующем подвергаются организации с сохранением регионального кровотока. Изменения в слизистой криоденервированного желудка характеризуются перестройкой железистой ткани, снижением числа

обкладочных клеток и тотальной атрофией слизистой. Использование данной методики содействует ослаблению способности клеток слизистой желудка продуцировать желудочный сок, что является одним из основных требований в лечении язвенной болезни 12-перстной кишки.

1. Винниченко А. Г., Тимченко К. Г., Елов В. А. и др. Ваготомия в хирургическом лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки // Хирургия.— 1981.— № 9.— С. 30—32.
2. Кузин М. И., Постолов П. М., Кузин Н. М. Ваготомия в лечении язвенной болезни // Хирургия.— 1982.— № 12.— С. 7—14.
3. Schiöbel M. Über die Pathogenese der magenwandnekrose nach selektiv-proximaler Vagotomie // Der Chirurg.— 1981.— 52, N 5.— S. 328—331.

Дорожная клиническая больница,
г. Харьков, Ин-т проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 01.06.87

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 617.715

Ю. А. Демин, Т. М. Шарлай

ВЛИЯНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО КОНСЕРВИРОВАНИЯ НА СТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ТКАНИ СКЛЕРЫ

В последние годы достигнуты большие успехи в изучении влияния низких температур на клетки, клеточные суспензии, отдельные ткани [1, 4—7]. Однако малоизученным остается вопрос о действии низких температур на соединительную ткань и, в частности, ее межклеточное вещество. В литературе имеются лишь единичные сообщения об изучении межклеточного вещества соединительной ткани после действия низких температур [2,3].

Нами проведено гистоморфологическое исследование межклеточного вещества склеры кролика до и после консервирования при -196°C под защитой полиэтиленоксида молекулярной массы 400 (ПЭО-400). Исследование проводилось с помощью специальных топо-оптических реакций с окрашиванием препаратов пикросириусом красным для определения макромолекулярной организации коллагеновых волокон, и с окрашиванием толундиновым синим при различных pH для определения гликозамингликанов (ГАГ) в межклеточном веществе склеры. Исследуя склеру кролика в поляризованном свете после низкотемпературного консервирования при -196°C под защитой ПЭО-400, отметили разрыхление ткани с разволокнением коллагеновых пучков и волокон. При этом обнаружено нарушение архитектоники склеральной ткани, в частности, изменение направленности волокон и пучков в различных зонах. Местами наблюдалось истончение пучков коллагеновых волокон. Небольшое их истончение отмечено в местах разрыхления, и на этих же участках максимально усиливалась беспорядочность переплетения волокон, коллагеновые волокна выглядят набухшими.

В результате проведенных исследований установлено достоверное снижение степени рефракции коллагеновых волокон криоконсервированной склеры до 25,86 Гнм по сравнению с величиной рефракции коллагеновых волокон нативной склеры 27,62 Гнм.

При изучении склеры кролика при окрашивании толундиновым синим в поляризованном свете определялась слабая метахромазия, что свидетельствует об умеренном содержании ГАГ в склере. Существенных достоверных различий в распределении ГАГ по структурным зонам склеры обнаружено не было.

Величина двулучепреломления суммарных ГАГ составила 4,8 Гнм в нативной склере. При изучении склеры после низкотемпературного консервирования было обнаружено достоверное снижение величины двулучепреломления ГАГ до 4,0 Гнм. Интересен тот факт, что наиболее яркая метахромазия выявляется в зонах разволокнения коллагеновых волокон и пучков.

Таким образом, при исследовании склеры кролика, консервированной при -196°C под защитой ПЭО-400, обнаружено, что после низкотемпературного консервирования в ткани склеры развиваются деструктивные процессы. Это выражается в достоверном снижении степени рефракции коллагеновых волокон, разрыхлении ткани с разволокнением коллагеновых пучков. При этом обнаружено нарушение архитектоники склеральной ткани, в частности, изменение направленности волокон в различных зонах. Можно предположить, что действие низких температур при консервации приводит к диссоциации белково-углеводных комплексов, нарушению макромолекулярной упорядоченности, и следовательно, к снижению двулучепреломления.

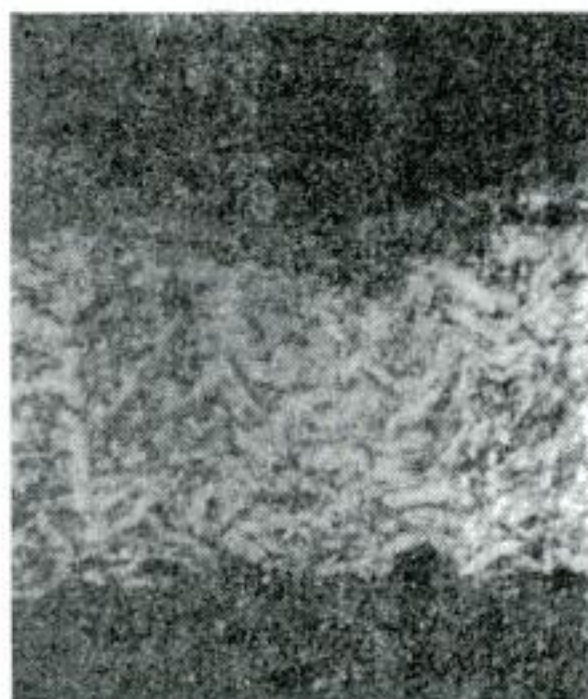
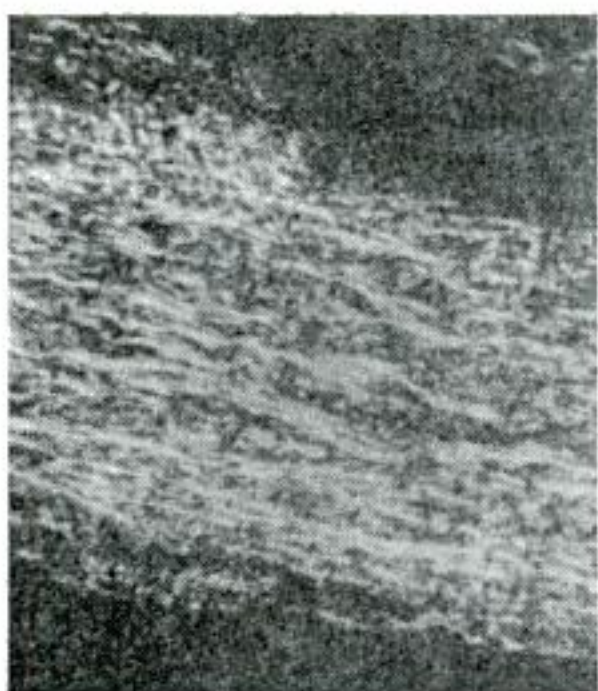


Рис. 1. Ткань нормальной склеры кролика. Окраска пикосириусом красным. X160

Рис. 2. Ткань склеры кролика после консервирования при -196°C под защитой ПЭО-400. Окраска пикосириусом красным. X160

1. Грищенко В. И., Лобынцева Г. С., Вотякова И. А., Шерешков С. И. Гемопозитивные клетки эмбриональной печени.— Киев: Наук. думка, 1988.— 192 с.
2. Малышкина С. В. Структурно-метаболические изменения суставного хряща после локального криовоздействия: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Харьков, 1985.— 22 с.
3. Пономарев Ю. И., Митасов В. И. Криоконсервация аортальных клапанов // Актуальные проблемы криобиологии.— Киев: Наук. думка, 1981.— С. 382 — 389.
4. Пушкарь Н. С., Белоус А. М., Цуцаева А. А. и др. Низкотемпературное консервирование костного мозга.— Киев: Наук. думка, 1976.— 287 с.
5. Сандомирский Б. П., Волкова Н. А. Жизнеспособность кожи при криоконсервации.— Киев: Наук. думка, 1985.— 88 с.
6. Цуцаева А. А., Аграненко В. А., Федорова Л. И. и др. Криоконсервирование клеточных суспензий. Киев: Наук. думка, 1983.— 240 с.
7. Юрченко Т. Н., Шарлай Т. М., Волков В. В. и др. Криоконсервация и трансплантация роговицы.— Киев: Наук. думка, 1986.— 152 с.

Ин-т проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 23.05.88

УДК 617.7—006 : 615.832.9

М. И. Шкромиды, В. П. Панько

КРИОДЕСТРУКЦИЯ КАК САМОСТОЯТЕЛЬНЫЙ МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ ПРИДАТКОВ ОРГАНА ЗРЕНИЯ

Для лечения злокачественных опухолей органа зрения наряду с другими используются физические методы, позволяющие разрушить опухолевую ткань воздействием на нее высоких или низких температур. Отмечено, что криовоздействие по сравнению с диатермокоагуляцией имеет ряд преимуществ.

Криотерапевтический метод лечения расширяет возможности по оказанию эффективной помощи при доброкачественных и злокачественных опухолях органа зрения и прилежащих отделов кожи лица и носа [1—7].

Лечение опухолей век, в основном базалиом, воздействием на них холодом различными методами (контактным или распылением хладагента) в первые 3—5 лет дает определенный процент рецидивов. При этом отмечено, что температура и длительность воздействия холода на опухоль могут быть различными: от 15 с до 2—3 мин. Так, Маттхойс В. с соавт. у 197 больных с базалиомами, папилломами и фибромами провели криоаппликацию жидким азотом с температурой наконечника —160 °С. За 4,5 года отмечены рецидивы у 2 больных [6].

В связи с опасностью осложнений в результате длительного воздействия низких температур на сосудистую и сетчатую оболочки при лечении холодом злокачественных новообразований конъюнктивы глазного яблока и роговицы применяется меньшая экспозиция холода на опухоль, что дает худшие результаты лечения [4,5].

Немногочисленные данные литературы [4,6] свидетельствуют о том, что криотерапия опухолей с локализацией в области слезных точек и канальцев, а также находящихся в непосредственной близости к ним, имеет явные преимущества по сравнению с хирургическими методами лечения. Офтальмологи нашей страны для лечения холодом используют различные отечественные и зарубежные аппараты [1—3]. Наше внимание привлек криоаппликатор КАО-02М, в котором для удобства работы с офтальмологической патологией была сокращена длина консоли до 60 мм и используются наконечники различного диаметра. Температура наконечника в контакте с тканью —196 °С. В качестве холода используется жидкий азот.

В клинике глазных болезней нашего института с 1982 г. находилось 52 больных с базалиомами век, гемангиомами. Из них у 40 человек были злокачественные новообразования век, гемангиомы — у 12.

Криодеструкцию базалиом кожи до 10 мм в диаметре проводили двухцикловым методом [5] с промежутком в 40—50 с, а в некоторых случаях сразу после оттаивания с экспозицией 1,2—2,5 мин с таким расчетом, чтобы в область замораживания включить 1—2 мм здоровой ткани.

В результате криовоздействия базалиома вместе со здоровой кожей вокруг становится белого цвета, плотной, с образованием кратера глубиной 1,5—2 мм. После оттаивания через 1—2 мин опухоль становится набухшей, кровенаполненной. Спустя 2—3 ч на коже образуется пузырь с прозрачным, иногда с геморрагическим экссудатом.

В послеоперационном периоде в окружающих зону замораживания тканях, как правило, развивается невоспалительный отек, степень выраженности которого зависит от локализации криоаппликации: он более выражен при криодеструкции в области углов глазной щели, особенно внутреннего. Отек в области углов глазной щели исчезает через 3—4 сут. К этому времени некротические ткани области замораживания организуются в сухую корку, отторжение которой происходит бескровно и продолжается около двух недель. На месте полностью разрушенной опухоли образуется почти незаметный бледно-розового цвета рубец, уровень которого зависит от глубины криодеструкции. В отдельных случаях на коже остается небольшая фасетка (впадина), косметически, как правило, незаметная.

Лечению холодом подвергались также больные с капиллярными (простыми) гемангиомами, которые имели вид плоскостных пятен размером 8 × 12 мм. У 8 пациентов они локализовались на веках, у 2 — на кончике носа и у 2 — на коже лица. Размеры криоаппликаторов подбирали в зависимости от величины ангиом. Криодеструкцию проводили одноцикловым или двухцикловым методом в зависимости от величины ангиомы с промежутком 10—15 мин с экспозицией 30—40 с, в 3 случаях у детей в возрасте 1 и 2 мес с капиллярной гемангиомой верхнего века и у одного 14-месячного ребенка с капиллярной гемангиомой нижнего века с экспозицией до 6 с.

В течение 3—4 лет рецидивов гемангиом не было. На их месте образовались нежные рубцы цвета окружающей кожи.

Исход лечения холодом злокачественных новообразований и гемангиом придатков органа зрения вполне удовлетворителен: из 52 леченных выздоровление наступи-

ло у 50 человек. Рецидив базалиом был у 2 пациентов с локализацией опухоли у внутреннего угла нижнего века.

Таким образом, лечение криоаппликациями злокачественных и доброкачественных опухолей придатков глаза и кожи лица дает хороший клинический и косметический результат.

1. Бровкина А. Ф., Зиангирова Г. Г., Комаров Б. А. О криоразрушении меланом хориоидеи // Вест. офтальмол.— 1977.— № 2.— С. 61—63.
2. Гундорова Р. А., Зиангирова Г. Г., Чудная Н. И. Крихирургия опухолей глаза // Актуальные вопросы офтальмологии.— Куйбышев: Б. и. 1973.— С. 222—224.
3. Чередниченко В. М., Бездетко П. А. Криотерапия доброкачественных новообразований век и конъюнктивы у детей. Методические рекомендации.— Харьков: Б.и., 1985.— С. 13.
4. Fraunfelder F. T., Wingfield D. Management of intraepithelial conjunctival tumors and squamous cell carcinomas // Amer. J. ophthalmol.— 1983.— 95, N 3.— P. 359—363.
5. Jakobiec F. A., Iwamoto T. Cryotherapy for intraepithelial conjunctival melanocytic proliferations // Arch. Ophthalmol.— 1983.— 101, N 6.— P. 904—912.
6. Matthäus W., Lange G., Roitzsch E. Die kryotherapie von Lid- und Bindehauttumoren // Ophthalmologia (Basel).— 1976.— 173, N 1.— S. 53—62.
7. Rybiczka R., Harrer S. Kryotherapie bei Problemfällen im okularen Bereich // Klin. Wochenschr. Augenheilk.— 1983.— 183, N 5.— S. 344—346.

Ивано-Франковский
мед. ин-т

Поступило 15.10.8

УДК 616.33—002.44—005.1 : 616—072.1

С. А. Павличенко, А. Е. Лагода, Б. И. Пеев

ЭНДОСКОПИЧЕСКАЯ КРИООБРАБОТКА КРОВОТОЧАЩИХ ЯЗВ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

Оперативное вмешательство, выполняемое у больных с гастродуоденальными язвами на фоне продолжающегося острого желудочно-кишечного кровотечения, сопровождается большим риском развития послеоперационных осложнений и высокой летальностью. Временная остановка кровотечения дает возможность провести адекватную подготовку больного к предстоящей операции, повышает переносимость пациентом операционной травмы.

В клинике Харьковского НИИ общей и неотложной хирургии для остановки кровотечений из верхнего отдела желудочно-кишечного тракта используется эндоскопическая криообработка источника кровотечения. Гастродуоденальные язвы являются наиболее частыми источниками кровотечения, трудно поддающимися обычным методам гемостаза. Обработку производили жидким фреоном, который подавался к источнику кровотечения по катетеру, проведенному через биопсийный канал фиброгастроскопа. Криовоздействие проводилось с экспозицией в 30—60 с с последующим 5—7-минутным визуальным контролем эффективности гемостаза.

Метод выполнен у 38 больных с продолжающимся кровотечением из гастродуоденальных язв. У 36 из них удалось добиться непосредственного гемостаза. Однако у 4 больных в сроки от 6 ч до 3 сут развился рецидив кровотечения, что потребовало срочного оперативного вмешательства. У 2 больных с крупными эрозированными сосудами в кратере язвы полного гемостаза достичь не удалось. Они оперированы в срочном порядке.

Полученные результаты позволяют рекомендовать широкое внедрение в хирургических стационарах гастроэнтерологического профиля эндоскопическую криообработку кровоточащих гастродуоденальных язв как эффективное средство гемостаза.

Харьковский НИИ общей
и неотложной хирургии

Поступило 26.11.87

ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ НА ЭТАПАХ ПРЕ- И РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ КРЫС

Несмотря на отдельные работы [1,3], посвященные проблеме гипотермической консервации печени, вопросы достаточного обоснования этого метода и, в частности, характера морфологических изменений печени крыс, находящихся на различных этапах пре- и постнатального онтогенеза, остаются нерешенными. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение гистологических, электронно-микроскопических особенностей состояния печени на этапах пре- и раннего постнатального развития крыс в условиях гипотермического (4 °С) хранения.

Объектом исследования служили фрагменты печени крыс линии Вистар в разные сроки онтогенеза: 20-й день эмбрионального развития, новорожденные, 1-месячные, 3-месячные. Кусочки печени помещали во влажную камеру при температуре 4 °С на сроки хранения 1 и 3 ч. Гистологические и электронно-микроскопические исследования проводили классическими методами [2,4].

При гистологическом и электронно-микроскопическом исследовании ткани печени всех возрастных групп животных через 1 ч после гипотермического (4 °С) хранения фрагментов печени не выявлено существенных различий в их морфофункциональном состоянии. Через 3 ч гипотермического хранения у плодов, согласно гистологическим данным, отмечается более рыхлое расположение клеток паренхимы и стромы, определяются фигуры митоза, а в части клеток различная степень выраженности дистрофических и деструктивных изменений. В целом, преобладают гепатоциты с нечеткими границами, большим светлым округлым ядром и эксцентрично расположенным ядрышком. В цитоплазме обнаруживаются неравномерно распределенные глыбки гликогена.

У новорожденных животных четко выражена балочная структура долек. Гепатоциты содержат крупные округлые ядра, преимущественно с примембранным расположением хроматина и ядрышек. В некоторых клетках наблюдается вакуолизация цитоплазмы, укрупнение гранул гликогена, а в части гепатоцитов их лизис.

В печени 1-месячных крыс через 3 ч после гипотермического хранения определяется более плотное расположение клеток. Некоторые гепатоциты имеют нечеткие границы, вакуолизированную цитоплазму, в ней не обнаруживается гликоген. Вместе с тем, как и в исходном состоянии, до 1 % гепатоцитов делятся митотическим путем.

У 3-месячных животных изменения структур печени наиболее выражены по сравнению с предшествующими периодами онтогенеза и сроками гипотермического хранения. Так, отмечается расширение синусоидных капилляров, зернистая дистрофия центролобулярных гепатоцитов, частичная деструкция гепатоцитов в периферических отделах долек.

Согласно электронно-микроскопическим данным, увеличение срока хранения фрагментов печени до 3 ч приводит к изменению соотношения конденсированных и диффузных участков хроматина в сторону формирования более крупных, уплотненных глыбок, частичной деструкции мембран зернистой эндоплазматической сети, увеличению количества свободных рибосом, просветлению митохондриального матрикса, преобладанию вакуолярных и везикулярных элементов в составе внутреннего сетчатого аппарата, более неравномерной локализации лизосом. Причем эти изменения наиболее выражены у плодов, новорожденных и 3-месячных крыс. В то же время для животных 1-месячного возраста характерны наименьшие структурные изменения ткани печени.

Проведенные исследования по изучению влияния гипотермии на морфофункциональное состояние печени крыс различных возрастных групп свидетельствует о нарастании структурных изменений с пролонгацией сроков хранения. Печень 1-месячных животных обладает более выраженной устойчивостью к действию охлаждения.

1. Козлов С. А. Оптимизация режима консервации печени в температурном диапазоне 2—4 °С // Журн. патол. физиол. и эксперим. терапия. — 1981. — № 11. — С. 36—42.
2. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистология. — М.: Мир, 1969. — 645 с.
3. Фелдмане Л. Э. Морфология сердца и других внутренних органов при глубокой гипотермии // Структурно-функциональные взаимоотношения в норме и патологии. — Рига: Зинатне, 1978. — С. 108—111.
4. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. — М.: Мир, 1975. — 319 с.

Ин-т проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР, г. Харьков

Поступило 21.03.88

ХРОНИКА

60-ЛЕТИЕ АКАДЕМИКА АН УССР В. И. ГРИЩЕНКО

27 ноября 1988 года исполняется 60 лет известному ученому в области криобиологии и криомедицины академику АН УССР Валентину Ивановичу Грищенко.

После окончания Харьковского медицинского института В. И. Грищенко с 1957 г. работал в Научно-исследовательском институте охраны материнства и детства им. Н. К. Крупской, затем в Харьковском медицинском институте: ассистентом, доцентом, старшим научным сотрудником; с 1965 г. по 1983 г. — проректор по научной работе, с 1965 г. — заведующий кафедрой акушерства и гинекологии; доктор медицинских наук (1965), профессор (1966). В 1979 г. избран членом-корреспондентом АН УССР, в 1988 г. — академиком АН УССР. Свыше 20 лет ведет научные исследования в области криобиологии и криомедицины. С 1983 г. директор Института проблем криобиологии и криомедицины АН УССР.

В. И. Грищенко проводит фундаментальные исследования по изучению воздействия низких температур на организм, органы, ткани, клетки, субклеточные структуры, изучает процессы различных скоростей охлаждения и отогрева, кристаллизации и рекристаллизации, большое внимание уделяет влиянию на биологические объекты различных криопротекторов. Используя данные этих исследований, В. И. Грищенко предложил новые оригинальные методы криохирургического лечения в акушерстве и гинекологии, ввел в практику краниocereбральную гипотермию при внутричерепной травме у новорожденных, у женщин после тяжелых кровопотерь, при эклампсии.

В. И. Грищенко совместно с сотрудниками интенсивно проводит работы по криобиологии репродуктивной системы, возглавляя это направление. При его участии созданы новые методы консервации спермы человека, которые внедряются в ряде научных центров страны, а также ткани яичника, клеток эмбриональной печени. Проводит разработку эффективных методик криоконсервации ооцитов и эмбрионов для экстракорпорального оплодотворения и эмбриотрансплантации. Значительное внимание ученый уделяет созданию новых аппаратов и приборов для криобиологии и криомедицины.

В. И. Грищенко — автор более 300 научных работ в области криобиологии, криомедицины, акушерства и гинекологии, 10 монографий, учебника, авторских свидетельств, методических рекомендаций. Член редколлегии ряда специализированных периодических изданий, главный редактор всесоюзного научно-теоретического журнала «Криобиология».

Член КПСС с 1956 г. выполняет большую общественно-политическую работу, является депутатом Харьковского городского Совета народных депутатов. Был делегатом XXVII съезда Компартии Украины, XIX Всесоюзной партийной конференции. Лауреат Государственных премий СССР и УССР. Награжден орденами Октябрьской революции, «Знак почета», медалями.

Научная общественность поздравляет Валентина Ивановича с шестидесятилетием со дня рождения, желает ему новых творческих свершений, крепкого здоровья.

КООРДИНАЦИОННОЕ СОВЕЩАНИЕ СЕКЦИИ «ЗИМОСТОЙКОСТЬ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ»

17—18 марта 1988 г. в Киеве проходило совещание секции «Зимостойкость сельскохозяйственных растений» при проблемном совете «Криобиология и криомедицина» АН УССР.

В работе совещания принимали участие ведущие специалисты в области физиологии и биохимии растений, криобиологии, физики, химии, гидрометеорологии, математики из 18 научно-исследовательских учреждений Москвы, Киева, Харькова, Еревана, Одессы, Ялты, Симферополя, Кишинева и Мичуринска.

О состоянии садоводства в Украинской ССР и роли науки в повышении его продуктивности говорил на совещании директор УНИИС М. В. Андриенко. Д. И. Тупицын подробно охарактеризовал повреждаемость плодовых и ягодных культур в различных районах промышленного садоводства СССР и ряда европейских стран в зимы 1984—1985, 1986—1987 г. г. С обширным анализом физиологической роли калия в устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды выступила Б. И. Берштейн. Была показана роль калия для нормального функционирования ферментов мембран, степени структурированности цитоплазмы как кооперативной системы, активности ионов в ростовых процессах, транспирации, состояния устьичного аппарата, фотосинтеза, дыхания и устойчивости наиболее метаболически активных тканей к низким температурам. О физиологии закалывания, роли эндогенных и экзогенных регуляторов роста, прежде всего картолина и полистимулина в продолжительности периода покоя, стабилизации ряда ферментов мембран и повышении морозоустойчивости растений сообщила Г. В. Кузина. Доклад М. И. Шраго был посвящен механизму действия криопротекторов и использованию их в фитокриобиологии. М. А. Соловьева охарактеризовала современное состояние проблемы зимостойкости плодовых растений. Она говорила о механизмах адаптации, методах прогнозирования повреждаемости растений и особенностях регенерационных процессов, роли криопротекторов — ПЭО разной молекулярной массы и экзогенных регуляторов роста в формировании морозоустойчивости плодовых растений. О различных способах формирования виноградных кустов, критических температурах гибели растений и физиолого-биохимических изменений в связи с морозоустойчивостью и восстановительной способностью новых селекционных сортов доложил К. С. Погосян. О роли закалывания, методах определения морозоустойчивости винограда и путях ее повышения на юге Украины сообщил В. А. Шерер.

В докладе В. П. Дмитренко «Агроклиматические условия выращивания отдельных сельскохозяйственных растений на Украине» рассмотрены вопросы подготовки информации для построения карт агроклиматических условий для научного обоснования зональных систем земледелия, разработана математическая модель, позволяющая оценивать хозяйственный потенциал урожайности, влияние метеорологических величин, технологических приемов на урожайность и прогнозировать перезимовку озимой пшеницы. В. В. Манк и Н. И. Лобовка в сообщении «О состоянии воды в биологических системах и процессы льдообразования» рассказали о последних достижениях в области изучения физико-химических свойств воды, о роли соотношения связанной воды к свободной в процессах образования льда при замораживании, влиянии режимов замораживания на скорость образования и размеры кристаллов льда внутри клетки и в межклеточных пространствах. О роли водного режима в комплексной устойчивости многолетних древесных растений, методах прогнозирования засухоустойчивости доложил А. И. Лищук. О регенерационной способности южных плодовых растений в зависимости от типа повреждений морозом, условий выращивания и генотипической специфичности сорта сообщила С. В. Клименко. Г. П. Биличенко и Н. И. Гойса охарактеризовали роль радиационного режима в устойчивости растений к неблагоприятным условиям зимовки и предложили две расчетные математические формулы по установлению критериев оптимальности радиационного режима. На совещании также обсуждались вопросы потенциальной морозоустойчивости сельскохозяйственных растений, роли условий выращивания в формировании комплексной устойчивости растений (М. А. Соловьева, А. И. Лищук), применения защитных средств, предупреждающих наиболее распространенные типы повреждений плодовых деревьев (В. В. Грохольский).

методов прогнозирования и определения морозоустойчивости (Т. Е. Левит, Г. А. Гоголева, М. К. Скрипникова, О. И. Китаев). Отмечалась необходимость более строгой оценки морозоустойчивости новых селекционных и интродуцированных сортов, с тем чтобы исключить из районированного ассортимента неморозоустойчивые сорта.

Участники совещания рассмотрели отчеты за 1986 и 1987 годы и обсудили план комплексных научно-исследовательских работ секции «Зимостойкость сельскохозяйственных растений» на 1988 и 1990 годы.

В принятом на координационном совещании решении отмечена особая актуальность проблемы зимостойкости в повышении продуктивности сельскохозяйственных растений и необходимость включения основных разделов плана комплексных исследований секции «Зимостойкость сельскохозяйственных растений» в Международную программу по комплексной устойчивости культурных растений при ЮНЕСКО или ФАО. Следующее координационное совещание планируется провести в феврале-марте 1990 года.

В. В. Грохольский

ВСЕСОЮЗНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «СТРУКТУРНАЯ ДИНАМИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН И ЕЕ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИХ И РЕЦЕПТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ»

31 мая — 1 июня 1988 г. в Минске состоялась Всесоюзная конференция «Структурная динамика биологических мембран и ее роль в регуляции фотобиологических и рецепторных процессов». Конференция проводилась Академиями наук СССР и БССР, научными советами «Биологические мембраны и использование принципов их функционирования в практике», «Фотосинтез, мембранная биофизика и фоторегуляция клеточных процессов» на базе Института фотобиологии АН БССР.

Работа конференции проходила в рамках 4 секций: «Подвижность компонентов и конформационные перестройки биологических мембран», «Мембранные механизмы фото- и хеморецепторных процессов», «Структурная динамика фотосинтетических мембран», «Структурные перестройки и кооперативность в процессах возбудимости и межклеточных коммуникаций».

Программа конференции была очень насыщенной, здесь представлен ретроспективный анализ сообщений секции «Подвижность компонентов и конформационные перестройки биологических мембран». Доклад С. В. Конева «Кооперативная динамика структуры мембран. Итоги и перспективы» явился, по существу, обобщающим и программным докладом конференции, в котором отмечалась регуляторная значимость кооперативных перестроек мембран, представлены широкие экспериментальные доказательства, позволяющие рассматривать кооперативный генерализованный структурный переход в мембранах в качестве основного механизма регуляции функциональной активности клеток. Сообщение А. А. Льва было посвящено изучению проводимости модельных систем, сконструированных из монослоев липидов. Полученные результаты подтверждают предложенную ранее гипотезу о природе одиночных каналов в мембранах. Изучение локальных поперечных колебаний клеточных мембран при освещении было темой доклада С. В. Левина. Предполагается, что обнаруженная осцилляция — способ трансмембранной сигнализации клеток. Большое внимание в сообщениях уделялось динамическим аспектам структуры мембран и роли цитоскелета клеток в регуляции ряда функциональных актов. Этим проблемам были посвящены доклады А. С. Капрельянца и С. Н. Орлова. Вопросы модификации мембран клеток крови амфифильными олигопептидами анализировались в докладе С. Г. Галактионова. В сообщении П. А. Киселева была подробно изучена динамика белок-липидных взаимодействий в цитохром Р-450 содержащей монооксигеназной ферментной системе. О механизме синтеза АТФ и структурных изменениях энергопреобразующих биологических мембран говорилось в сообщении А. Н. Тихонова. Ряд докладов о изучении реакции клеток на экстремальные воздействия можно выделить в отдельную группу. Характерно, что при хранении и старении эритроцитов (Е. А. Черницкий), охлаждении и замораживании (М. М. Лоевский) и фотосенсибилизированном

воздействии (А. В. Воробей) выявлены сходные структурные изменения мембран: регистрируются белковые сшивки и образование высокомолекулярных ассоциатов, инициируются процессы ПОЛ, изменяются барьерные свойства клеток. Структурные изменения плазматических мембран клубней картофеля под влиянием глюконов фитотоксины обсуждались в докладе М. Н. Мерзляка. Два выступления были посвящены непосредственному изучению липидной фазы мембран: роли холестерина в динамической структуре (С. И. Клебанов) и изучению физических свойств липидной фазы мембран и липопroteinов при свободно-радикальном окислении (А. И. Деев). Большой интерес вызвали доклады, характеризующие роль структурной динамики плазматических мембран на ранних этапах репликативного цикла вируса гриппа (В. А. Кириллов) и детализирующие роль гликопротеиновых рецепторов в процессах агрегации некоторых клеток (А. В. Тимошенко). Помимо пленарных сообщений на конференции были представлены стендовые доклады. Предполагается провести очередную конференцию в 1993 г. в Минске.

М. М. Лоевский

ЗАЩИТА ДИССЕРТАЦИЙ

В специализированном совете при Институте проблем криобиологии и криомедицины АН УССР в 1987 г. защищена диссертационная работа на соискание ученой степени доктора биологических наук В. А. Науком «Структурно-функциональные особенности сперматозоидов сельскохозяйственных животных при криоконсервации и разработка эффективных способов их длительного хранения». В работе изучены видовые, структурные, биохимические и функциональные показатели сперматозоидов быка, барана и хряка на разных уровнях их биологической организации при криоконсервации. Установлено, что криповреждения сперматозоидов объясняются разрушением биомембран, что предопределяется величиной соотношения основных компонентов, усилением процесса перекисного окисления липидов и нарушением устойчивости связей белково-липидных комплексов клеточных структур. Разработаны и внедрены в практику животноводства лактозо-фруктозо-рафинозо-магниево-глицерино-желточная и лактозо-сорбито-тиосульфато-глицерино-желточная среды для замораживания спермы быка в полимерных соломинках, технология криоконсервации гамет быков и баранов, способы повышения оплодотворяемости коров и свиноматок.

В диссертационной работе О. И. Федец «Биоэнергетика и пролиферативная активность криоконсервированных клеток асцитной карциномы Эрлиха» на соискание ученой степени кандидата биологических наук показано, что клетки асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) могут успешно переносить низкотемпературное замораживание со скоростью 1 °С/мин в асцитической жидкости без использования криопротекторов. Установлено, что в криоконсервированных клетках АКЭ снижается скорость эндогенного дыхания, разобщаются процессы дыхания и окислительного фосфорилирования, снижается степень выраженности эффекта Крэбтри, резко падает уровень АТФ, менее изменяется уровень АДФ, уровень АМФ практически не изменяется.

Изучено действие на клетки АКЭ некоторых ведущих физико-химических факторов низкотемпературного консервирования, которые могут отрицательно влиять на сохранность клеток.

АРОН МИХАЙЛОВИЧ УТЕВСКИЙ

3 сентября 1988 г. на 85-м году жизни после тяжелой продолжительной болезни умер ученый-биохимик, член-корреспондент Академии наук СССР, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник — консультант Института проблем криобиологии и криомедицины АН СССР Арон Михайлович Утевский.

А. М. Утевский родился 3 июля 1904 г. в г. Конотопе Сумской области.

Высшее образование получил в Харьковском институте народного образования в 1924 г. С 1925 года работал в Украинском биохимическом институте, с 1930 — в Харьковском медицинском институте. С 1932 по 1975 год заведовал кафедрой этого института. С 1975 года руководил лабораторией, а с 1984 г. — отделом Института проблем криобиологии и криомедицины АН СССР. Его труды внесли весомый вклад в развитие общебиологической концепции функционального обмена гормонов-медиаторов. Широкое практическое применение в медицине нашли методы исследования катехоламинов и их производных. Успешно развивается разработанное А. М. Утевским новое научное направление — криобиология эндокринных органов и гормонально-рецепторных взаимодействий, раскрывающее новые перспективы в применении трансплантации тканей и органов. А. М. Утевский в 1939 году был избран членом-корреспондентом Академии наук СССР.

Свою научную деятельность А. М. Утевский успешно сочетал с научно-организационной и общественной работой. Был членом Центрального совета Всесоюзного и президиума Украинского биохимического обществ, председателем Харьковского биохимического общества, членом Бюро философских семинаров Северо-восточного научного центра, членом редакционных коллегий ряда научных журналов. Большое внимание уделял вопросам подготовки и воспитания кадров.

За заслуги перед Родиной А. М. Утевский был награжден Почетными грамотами Президиума Верховного Совета Украинской ССР и Президиума Верховного Совета Киргизской ССР, медалями.

Светлая память об Ароне Михайловиче Утевском навсегда останется в сердцах тех, кто его знал и работал с ним.

Президиум Академии наук СССР, Отделение биохимии, физиологии и теоретической медицины АН СССР, Институт проблем криобиологии и криомедицины АН СССР.

УДК 576.8.093

Анабиоз и консервация микроорганизмов / Калакуцкий Л. В., Сидякина Т. М. // Криобиология. — 1988. — № 4. — С. 3—9.

Проанализированы менее изученные случаи естественного перехода или экспериментального перевода в покоящееся состояние вегетативных клеток микроорганизмов. Обсуждаются перспективы использования покоящихся клеток микроорганизмов в консервации коллекционных культур. Ил. 1. Табл. 1. Библиогр.: 25 назв.

УДК 581.1 : 57.043

Криолабильный компонент клеток высших растений / Мануильский В. Д., Сидоренко Т. В. // Криобиология. — 1988. — № 4. — С. 10—13.

Выделен из тканей коры яблони самособирающийся компонент супернатанта (СКС), который представляет собой мембранно-связанный комплекс, обладающий способностью полимеризоваться с образованием геля. Его масса и компонентный состав изменялись при действии стрессовых режимов замораживания и при введении в среду ЭГТА. Установлено, что при действии стрессовых режимов замораживания K^+-H^+ -зависимая АТФ-аза СКС в отличие от микросомальной фракции мембран обладает большой чувствительностью к ионам Ca^{2+} . Предполагается, что при деструкции плазматических мембран в результате криповреждений ионы Ca^{2+} обладают свойствами снижать дисперсию отдельных компонентов мембран и вызывать их агрегацию. Ил. 3. Табл. 1. Библиогр.: 16 назв.

УДК 61.001.57

Математическая модель цирроза для объяснения механизма к... стимуляции регенерации печени / Радченко Д. Г., Сандомирский Б. П., Слыбкая И. А., Снурников А. С. // Криобиология. — 1988. — № 4. — С. 13—17.

Приведена динамическая модель цирроза печени, вызванного хронической интоксикацией животных гепатотропным веществом. Патология рассматривается как аутоиммунное заболевание. Гипотеза обосновывается как данными экспериментов, так и результатами математического моделирования. Модель качественно объясняет механизм таких вмешательств, как гепатэктомия, криодеструкция печени, а также указывает пути воздействия на иммунную систему для лечения исследуемой патологии. Ил. 3. Библиогр.: 6 назв.

УДК 57.017.3 : 576.314

Периодическое обновление белков мембран кардиомиоцитов сусликов в цикле гибернация-пробуждение / Жегунов Г. Ф., Микулинский Ю. Е. // Криобиология. — 1988. — № 4. — С. 17—23.

Показано, что в период зимней спячки существуют циклические изменения синтетической активности клеток, а также периодическое обновление белков мембран в процессе спонтанных пробуждений гетеротермных животных. Предлагается возможный механизм перестройки плазматических мембран клеток сердца сусликов в цикле гибернация-пробуждение путем замены мембранного материала на бислой цитоплазматических везикул, содержащих вновь синтезированные белки. Ил. 4. Табл. 3. Библиогр.: 10 назв.

УДК 57.043:618.7—002:616.155.194]:612.017

Клинико-иммунологические параметры у родильниц с септическими послеродовыми заболеваниями, осложненными анемией, до и после трансфузии криоконсервированных клеток костного мозга / Грищенко В. И., Попов Н. Н., Курбанов С. Д. // Криобиология. — 1988. — № 4. — С. 24—27.

Проведено клинико-иммунологическое обследование 20 родильниц с гнойно-воспалительными послеродовыми заболеваниями, осложненными анемией, до и после миелотрансфузии и у 10 из них через 10—12 мес после выписки из стационара. При послеродовых септических заболеваниях, осложненных анемией, выявлен вторичный иммунодефицит. Отмечено, что миелотрансфузия способствует динамичному улучшению клинико-иммунологического статуса, приросту гемоглобина и эритроцитов. Через 10—12 мес после миелотрансфузии иммунологический статус обследованных женщин соответствует нормальным показателям Т- и В-системы иммунитета, антител к элементам костного мозга донора не выявлено. Табл. 2. Библиогр.: 4 назв.

УДК 616—006—053.2/5—089: 615.832.97

Комбинированное микроволновое и криовоздействие на биоткани в эксперименте и клинике / Шафранов В. В., Тен Ю. В., Резницкий В. Г., Цыганов Д. И., Кожевников В. А. // Криобиология. — 1988. — № 4. — С. 27—32.

Объем криопоражения значительно увеличивается при предварительном облучении биоткани микроволнами СВЧ ЭМП. На основании изучения теплопроводности даются оптимальные режимы СВЧ-воздействия. Методом СВЧ + криовоздействия пролечен 361 больной с объемными гемангиомами, успех достигнут в 93 %. Возраст детей — от 2 недель до 6 лет. Ил. 4. Библиогр.: 6 назв.

УДК 611—018.63.832.9

Морфометрическая оценка кардиозащитных свойств краниocereбральной гипотермии в эксперименте / Загоруйко Ю. В., Загоруйко Г. Е., Бабийчук Г. А. // Криобиология. — 1988. — № 4. — С. 32—34.

В работе представлены теоретические обоснования и приведена эмпирическая формула для определения эффективности защиты миокарда с помощью краниocereбральной гипотермии от повреждающего действия тканевой гипоксии. Табл. 1. Библиогр.: 7 назв.

УДК 612.017:615.832.97:618.146—007.17

Показатели клеточного иммунитета в процессе криохирургического лечения больных с предопухолевыми заболеваниями шейки матки / Миляновский А. И., Сенчук А. Я., Гордиенко В. М., Лихторович С. А. // Криобиология. — 1988. — № 4. — С. 35—37.

Методом Мендеса произведено исследование иммунологического статуса 45 больных с предопухолевыми заболеваниями шейки матки, леченных криохирургическим методом. Для контроля использованы данные обследования 25 здоровых женщин. Полученные результаты подтверждают участие иммунной системы в патогенезе злокачественного роста. Криохирургический метод лечения предопухолевых заболеваний шейки матки оказывает положительное иммуномодулирующее влияние. Табл. 1. Библиогр.: 4 назв.

УДК 616.351.089.032:611.351:615.832.98

Локальная гипотермия в лечении заболеваний прямой кишки / Балтайтис Ю. В., Яремчук А. Я., Короленко В. Б., Мальцев В. Н. // Кробиология. — 1988. — № 4. — С. 37—40.

Получены данные о выраженном противовоспалительном эффекте локальной гипотермии прямой кишки у 174 больных и описана методика ее применения: Табл. 1. Библиогр.: 5 назв.

УДК 616.342—002.44—089:615.832.9

Экспериментальное обоснование криовоздействия при селективной проксимальной ваготомии / Хворостов Е. Д., Сandomирский Б. П., Синельников А. Я., Лебедь В. М. // Кробиология. — 1988. — № 4. — С. 40—43.

Представлено экспериментальное обоснование применения низких температур при селективной проксимальной ваготомии. Показаны закономерности развития дегенеративно-деструктивных и восстановительных процессов в нервах и сосудистых компонентах тканей в зоне криовоздействия, а также слизистой желудка в различные сроки после криоваготомии. Ил. 4. Библиогр.: 3 назв.

UDC 576.8.093

Anabiosis and preservation of microorganisms / Kalakutsky L. V., Sidyakina T. M. // Kriobiologiya. — 1988. — N 4. — P. 3—9.

Poorely studied cases of natural or experimental transitions of bacterial vegetative cells into anabiosis were studied. Perspectives of using microorganisms in anabiosis for preservation of collection cultures are discussed. 1 fig. 1 table. Refs.: 25 titles

UDC 581.1:57.043

A cryolabile component of higher plant cells / Manuilsky V. D., Sidorenko T. V. // Kriobiologiya. — 1988. — N 4. — P. 10—13.

A self-assembling component of supernatant (SCS), i. e. a membrane bound complex capable of polymerization with gel formation has been isolated from the apple cortex. The weight and composition of the component appeared to change by stress freezing regimens and EGTA added to the medium. K^+ - H^+ -dependent ATPase of SCS affected by stress freezing regimens is more sensitive to Ca^{2+} than the microsomal membrane fraction. It has been suggested that Ca^{2+} ions may decrease dispersion of individual membrane components and induce their aggregation due to cryoinjury resulted from destruction of plasma membranes. 3 figs. 1 table. Refs.: 16 titles

UDC 61.001.57

A mathematical model of liver cyrrhosis for the cryostimulation mechanism of liver regeneration / Radchenko D. G., Sandomirsky B. P., Slabkaya I. A., Snurnikov A. S. // Kriobiologiya. — 1988. — N 4. — P. 13—17.

A dynamic model of cyrrhosis caused by injection of hepatotropic substances into animals is described. The hypothesis is substantiated by experimental results and mathematical modelling. The model can explain qualitatively the mechanisms of such interventions as hepatoectomy, liver cryodestruction and show the ways of affecting the immune system for treating the pathology. 3 figs. Refs.: 6 titles

UDC 57.017.3:576.314

Repeated renewal of membrane proteins in ground squirrel cardiomyocytes during hibernation and awakening / Zhegunov G. F., Mikulinsky Yu. E. // Kriobiologiya. — 1988. — N 4. — P. 17—23.

Cyclic changes in cell synthetic activity as well as repeated renewal of membrane proteins during spontaneous awakening of heterothermal animals were shown to exist in the period of hibernation. A possible mechanism of transformation of plasma membranes of ground squirrel cardiomyocytes during hibernation-awakening by substitution of the membrane material by the bilayer of cytoplasmic vesicles containing newly synthesised proteins has been suggested. 4 figs. 3 tables. Refs.: 10 titles

UDC 57.043:618.7—002:616.155.194]:612.017

Clinical and immunological parameters in parturients with septic anemia-complicated puerperal diseases before and after transfusion of cryopreserved bone marrow cells / Grishchenko V. I., Popov N. N., Kurbanov S.D. // Kriobiologiya. — 1988. — N 4. — P. 24—27.

The clinical and immunological parameters of 20 parturients with pyoinflammatory and anemia-complicated puerperal diseases were studied before and after myelotransfusion. 10 patients were examined in 10—12 months after discharge. The secondary immunodeficiency was observed in the patients. Myelotransfusion appeared to improve the clinical and immunological state of patients and to increase their hemoglobin and erythrocyte contents. In 10—12 months after myelotransfusion, the immunological status of examined women corresponded to normal indices of the immune T- and B-systems. Antibodies to allogenic bone marrow elements have not been revealed. 2 tables. Refs.: 4 titles

UDC 616—006—053.2/5—089:615.832.97

The combined effect of microwaves and low temperature on biological tissue i. experiment and clinic / Shafranov V. V., Ten Yu. V., Reznitsky V. G., Tsyganov D. I., Kozhevnikov V. A. // Kriobiologiya. — 1988. — N4. — P. 27—32.

The dimensions of cryolesion increased markedly after preliminary irradiation of biological tissue with microwaves, i. e. UHF electromagnetic field. Optimal regimens of the UHF action have been revealed basing on the results of heat conductivity studies. 361 patients with large hemangioma aged from 2 weeks to 6 years were treated successfully (93 %) by the method of UHF + low temperature. 4 figs. Refs.: 6 titles

UDC 611—018.63.832.9

The morphometric estimation of the efficiency of experimental craniocerebral hypothermia for heart protection / Zagoruyko Yu. V., Zagoruyko G. E., Babiychuk G. A. // Kriobiologiya. — 1988. — N 4. — P. 32—34.

The theoretical substantiation and empiric formula are presented for the determination of the efficiency of myocardium protection by craniocerebral hypothermia from the detrimental effect of tissue hypoxia. 1 table. Refs.: 7 titles

UDC 612.017.615.832.97.618.146—007.17

Parameters of the cellular immunity in patients with pretumor diseases of cervix uteri treated by cryosurgery / Milanovsky A. I., Gordiyenko V. M., Senchuk A. Ya., Likhtorovich S. A. // *Kriobiologiya*.— 1988.— N. 4.— P. 35—37.

The immune status of 45 patients with pretumor diseases of cervix uteri treated by cryosurgery was examined by the method of Mendes and compared with that of 25 healthy women. The obtained results indicated that the immune system was involved in pathogenesis of malignant growth. The cryosurgical method of treating pretumor diseases of cervix uteri appeared to have a positive immunomodulating effect. 1 table. Refs.: 4 titles

UDC 616.351.089.032:611.351:615.832.98.

The treatment of rectal diseases using local hypothermia/ Baltaytis Yu. V., Yaremchuk A. Ya., Korolenko V. B., Maltsev V. N. // *Kriobiologiya*.— 1988.— N. 4.— P. 37—40.

The data on the marked antiinflammatory effect of local hypothermia on rectum have been obtained in 174 patients. The method of treatment is described. 1 table. Refs.: 5 titles

UDC 616.342—002.44—089:615.832.9

The experimental substantiation of cryoapplication in selective proxima vagotomy / Khvorostov E. D., Sandomirsky B. P., Sinelnikov A. Ya., Lebed V. M. // *Kriobiologiya*.— 1988.— N. 4.— P. 40—43.

Regularities in the development of degenerative-destructive and repair processes in nervous and vascular tissue components in the zone of cryoapplication, as well as in gastric mucosa at different times after cryovagotomy, have been demonstrated. 4 figs. Refs.: 3 titles

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКОВА ДУМКА» ГОТОВИТ К ВЫПУСКУ:

Бабийчук Г. А., Грищенко В. И., Шифман М. И. Нейрохимические процессы в центральной нервной системе при гипотермии.— Киев: Наук. думка, 1989 (III).— 13 л.: ил.— ISBN 5—12—000780—5 (в пер.): 2 р. 90 к.

В монографии представлены данные о механизмах нейрохимических процессов в организме при охлаждении методом краниocereбральной гипотермии (КЦГ). Показано, что ответной реакцией организма на воздействие КЦГ является индуцируемый выброс норадреналина из преоптической области гипоталамуса и подавление секреции серотонина. Отражено влияние КЦГ на степень сродства к нейромедиатору. Приведены доказательства модификации адренорецепторов в мембранах нейросекреторных клеток и изменения системы центральной внутриклеточной регуляции метаболизма — аденилатциклазы и циклических нуклеотидов. Для научных работников, врачей, преподавателей и студентов, занимающихся проблемами гипотермии и гипобноза.

Продолжается подписка на 1989 год на всесоюзный научно-теоретический журнал «Криобиология». В журнале публикуются научные работы по всем аспектам действия охлаждения и замораживания в биологии, медицине и пищевой промышленности, по проблемам гипотермии, низкотемпературному консервированию клеток и тканей, криохирургии, по сублимационному высушиванию, о криопротекторных веществах и их фармакологическом действии. Освещаются вопросы гибернации, зимостойкости растений, конструирования приборов и оборудования для низкотемпературного консервирования биологических объектов и криомедицины.

Журнал рассчитан на научных работников в области биологии и медицины, преподавателей и студентов вузов соответствующего профиля, практиков, использующих методы воздействия холода на биологические объекты.

Периодичность — 4 номера в год. Подписная цена: на 3 мес. — 65 к., на 6 мес. — 1 р. 30 к., на 12 мес. — 2 р. 60 к.

Подписка принимается в агентствах и отделениях «Союзпечать», отделениях связи и общественными распространителями печати.

ISSN 0233-7673 Криобиология. 1988. № 4. 1-56