

ISSN 0233-7673

КРИОБИОЛОГИЯ

2 | 86



Матеріал, захищений авторським правом

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

EDITORIAL BOARD

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

EDITORIAL COUNCIL

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

Адрес редакции:

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

Ответственный секретарь редакции Ф. А. ПРИХОДЬКО

Научный редактор В. И. ВИШНЕВСКИЙ

Редактор Л. А. РЯБИНИНА

Технический редактор В. Н. ВОЛКОВА

Сдано в набор 17.01.86. Подписано в печать 25.03.86. БЦ 09082. Формат 70×108/16. Физ.
печ. л. 3,5. Уч.-изд. л. 5,42. Усл. краскоот. 5,60. Усл. печ. л. 4,90. Тираж 1000 экз. Заказ № 6-16
Цена 65 к.

Отпечатано с матриц Харьковской книжной фабрики им. М. В. Фрунзе в Харьковской город-
ской типографии № 16. 310003, Харьков, Университетская, 16. Зак. 745.

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ОТДЕЛЕНИЕ ФИЗИОЛОГИИ

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ОТДЕЛЕНИЕ БИОХИМИИ, ФИЗИОЛОГИИ
И ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

КРИОБИОЛОГИЯ

2 1986

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ОСНОВАН В 1985 ГОДУ
ВЫХОДИТ 4 РАЗА В ГОД

КИЕВ НАУКОВА ДУМКА 1986

СОДЕРЖАНИЕ

МАЛАЯ Л. Т., БАБИЙЧУК Г. А., ВЛАСЕНКО М. А., ЧИЖЕВСКАЯ И. В. Содержание простагландинов в крови животных с экспериментальным инфарктом миокарда при краниocereбральной гипотермии	3
ТУРАКУЛОВ Я. Х., МУХАМЕДЗЯНОВА И. Р., ИСМАИЛОВ С. И., ТАШ- ХОДЖАЕВА Т. П. Биохимические показатели функции тиреоидной ткани при криоконсервации	7
ЦУЦАЕВА А. А., МАРКОВА В. М., ХАЙКИН Р. К., ЮРЧЕНКО Г. Г., РЫН- ДИН В. Ф. Длительное хранение противостолбнячных сывороток в жидком азоте	10
ОСЕЦКИЙ А. И. Влияние вязкости среды на скорость не диффузионно-контроли- руемых биохимических реакций	14
ЛОЕВСКИЙ М. М., БЕЛОУС А. М. Биологическое и криозащитное действие 1,2-пропандиола	20
ГОРДИЕНКО Е. А., ГОРДИЕНКО О. И. О механизме осмотического лизиса эритроцитов	23
ВЕРХОВСКАЯ Л. З., СИГАЛ Н. С., КАРТАШОВ В. Ф., ГУЧОК В. М., МА- ЗАЛОВ В. К. Воздействие оксигенизированных полиолов на организм лаборатор- ных животных	26
АНУФРИЕВ А. И., СОЛОМОНОВА Т. Н., ВАСИЛЬЕВ И. С., ДАНИЛОВА Л. С., АХРЕМЕНКО А. К. Исследование показателей углеводного метаболизма длинно- хвостого суслика в период зимней спячки	29
ЖЕГУНОВ Г. Ф. Структура межклеточных контактов в миокарде гетеротермных млекопитающих	32
КИМ ЕН РЮЛ, ЭМИРБЕКОВ Э. З. Содержание гомокарнозина в мозге незни- моспящих и зимоспящих животных при охлаждении	34
ВОЛКОВА Н. А., ХВОСТОВА С. Г., САНДОМИРСКИЙ Б. П. Синтез ДНК в органных культурах кожи человека при криоконсервировании	36
НИКИТИН В. А., КУЦЕВЛЯК В. Ф., ПУРЕНЕ А. Б. Динамика кислородного режима тканей пародонта у больных пародонтитами в процессе комплексной те- рапии, включающей оксигенацию в условиях локальной гипотермии	40
МИЛЯНОВСКИЙ А. И., ГОРДИЕНКО В. М., МУСЬКИН Ю. Н., СЕНЧУК А. Я., ЖАРКОВ Я. В. Лечение рецидивирующих эпителиальных дисплазий шейки матки криовоздействием	42
МУРИНЕЦ-МАРКЕВИЧ Б. Н., КРАСНИКОВ А. Р., ЗАМОШНИКОВ В. Н., КУЗНЕЦОВА Н. В., ШНЕЕ С. Н. Криогенные инструменты и аппараты для стереотаксической нейрохирургии	44

© Издательство «Наукова думка», «Криобиология», 1986

This One



40D0-F77-D80P

защиты авторским правом

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ЖИГУН А. И. Применение холода при лечении эпикондилитов плеча . . .	47
СЛЕТА И. В. Начальные изменения микрогемодикуляции печени крыс после локальных криовоздействий	48
РЕПИН Н. В., ТОДРИН А. Ф. Оценка условий охлаждения, приводящих к стеклованию водных растворов глицерина	48
Хроника	50
Рефераты	52

CONTENTS

MALAYA L. T., BABIYCHUK G. A., VLASENKO M. A., CHIZHEVSKAYA I. .V The content of prostaglandines in blood of animals with experimental myocardial infarction subjected to craniocerebral hypothermia	3
TURAKULOV YA. X., MUKHAMEDZYANOVA I. R., ISMAILOV S. I., TASH-KHODZHAYEVA T. P. Biochemical indices of thyroid function upon cryopreservation	7
TSUTSAYEVA A. A., MARKOVA V. M., HAYKIN R. K., YURCHENKO G. G., RYNDIN V. F. Long-term storage of antitetanic sera in liquid nitrogen	10
OSETSKY A. I. The effect of viscosity on the rate of non-diffusively controlled biochemical reactions	14
LOYEVSKY M. M., BELOUS A. M. The biological and cryoprotective effect of 1,2-propanediol	20
GORDIYENKO E. A., GORDIYENKO O. I. On the mechanism of osmotic lysis in erythrocytes	23
VERKHOVSKAYA L. Z., SIGAL N. S., KARTASHOV V. F., GUCHOK V. M., MAZALOV V. K. The effect of cryoprotectants hydroxyethylated polyols on experimental animals	26
ANUFRIYEV A. I., SOLOMONOVA T. N., VASILYEV I. S., DANILOVA L. S., AKHREMENKO A. K. The investigation of metabolic indices of hibernating long tailed ground squirrels	29
ZHEGUNOV G. F. The structure of intercellular contacts in myocardium of heterothermal animals	32
KIM EN RUL, EMIRBEKOV E. Z. The content of homocarnosine in brain of non-hibernators and hibernators upon cooling	34
VOLKOVA N. A., KHVOSTOVA S. G., SANDOMIRSKY B. P. DNA synthesis in organ cultures of cryopreserved human skin	36
NIKITIN, V. A., KUTSEVLYAK V. F., PURENE A. B. Dynamics of oxygen regimen in parodontium tissues of patients with paradontitis treated using oxygenation under local hypothermia	40
MYLYANOVSKY A. I., GORDIYENKO V. M., MUSKIN Yu. N., SENCHUK A. Ya., ZHARKOV Ya. V. A method of treating repeated epithelial displasia of cervix uteri with cryoapplication	42
MURINETZ-MARKEVICH B. N., KRASNIKOV A. P., ZAMOSHNIKOV V. N., KUZNETSOVA N. V., SHNEE S. N. Cryogenic instruments and apparatus for stereotaxic neurosurgery	44

SHORT COMMUNICATIONS

ZHIGUN A. I. Cryotherapy of arm epicondylitis	47
SLETA I. V. Initial changes in rat liver microcirculation after local cryoapplication .	48
REPIN V. N., TODRIN A. F. Evaluation of cooling conditions leading to glass formation in aqueous glycerol solutions	48
Chronicle	50
Abstracts	55

Л. Т. Малая, Г. А. Бабийчук, М. А. Власенко, И. В. Чижевская

СОДЕРЖАНИЕ ПРОСТАГЛАНДИНОВ В КРОВИ ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА ПРИ КРАНИОЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ

Инфаркт миокарда, как одно из наиболее распространенных заболеваний сердца, остается в центре внимания теоретической и практической медицины. В последние годы достигнуты определенные успехи в защите ишемизированного миокарда, вместе с тем и в настоящее время смертность от этого заболевания остается значительной. Отсутствие ощутимых результатов при использовании все более мощных и эффективных систем мониторинга, оценки гемодинамической ситуации, новых антиаритмических и кардиотонических средств свидетельствует о необходимости разработки и внедрения новых способов лечения инфаркта миокарда, доступных для клиники и эффективных в ограничении размеров зоны некроза. Одним из таких методов может быть охлаждение организма, которое находит широкое применение при лечении ряда заболеваний сердца.

В формировании острого ишемического повреждения миокарда принимают участие как гемодинамические факторы, так и клеточные механизмы, ответственные за деструкцию мембран и освобождение ферментов повреждения. В числе факторов, принимающих участие в развитии инфаркта миокарда, наиболее важными являются изменения мембран и увеличение агрегации форменных элементов крови; первые определяют выраженность клеточного повреждения, а вторые обуславливают тенденцию к тромботическому повреждению микрососудистого русла миокарда. На оба эти процесса существенное влияние оказывают простагландины, увеличение синтеза которых происходит в участках ишемии миокарда. Очень важным звеном в динамике развития адаптационных реакций организма при инфаркте миокарда является циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), который включается в клеточный метаболизм путем активации протеинфосфокиназы с последующим индуцированием фосфорилирования белков и ферментов.

В связи с вышеизложенным мы изучили и обобщили данные, касающиеся изменения содержания простагландинов E , $F_{2\alpha}$ и цАМФ в крови животных с экспериментальным инфарктом миокарда (ЭИМ), и попытались обосновать, судя по изменению этих показателей, возможный кардиозащитный эффект краниоцеребральной гипотермии.

Опыты проводились на беспородных собаках. В первой серии экспериментов моделировали инфаркт миокарда. На первом этапе после торакотомии животным под нисходящую ветвь на границе между верхней и средней третью подводили лигатуру. Второй этап — затягивание лигатуры с формированием инфаркта миокарда — осуществляли через 7—10 дней. Во второй серии экспериментов животные охлаждались до температуры тела 32—30 °С. В третьей серии опытов (инфаркт миокарда с гипотермией) краниоцеребральная гипотермия (КЦГ) начиналась через 1 ч после затягивания лигатуры. КЦГ проводилась с помощью гипотерма «Холод — 2Ф». Нейровегетативная защита обеспечивалась введением нейролептиков и ганглионарной блокадой по методу А. А. Шалимова. Содержание простагландинов в крови определялось радиоиммунологическими методами при помощи стандартных наборов реагентов. Количество цАМФ определялось в пробах

с использованием набора реактивов и методических рекомендаций фирмы Amersham (Англия). Статистическая обработка полученных данных производилась по программе «STAT» на ЭВМ СМ-4.

Острый экспериментальный инфаркт миокарда характеризовался значительным увеличением содержания в крови простагландинов Е и F_2 сразу же после появления признаков трансмурального характера поражения сердца. Содержание простагландина Е через 15 мин после перевязки коронарной артерии увеличивалось до $21,317 \pm 0,790$ нмоль/л, что в два раза выше по сравнению с нормой и уровнем в период наркоза. В еще большей степени к этому времени повысилось содержание в крови простагландина $F_{2\alpha}$ ($1,173 \pm 0,151$ нмоль/л), что превышает исходные показатели почти в 10 раз (табл. 1,2). Через 1 ч в крови животных уровень простагландина Е увеличился, в то время как концентрация простагландина $F_{2\alpha}$ имела тенденцию к снижению. Через сутки уровень эндогенного простагландина Е в крови соответствовал исходным величинам; содержание $F_{2\alpha}$ к этому сроку все еще было повышенным.

Т а б л и ц а 1. Содержание простагландина $F_{2\alpha}$ в плазме крови животных с ЭИМ и КЦГ

Наименование этапа	ЭИМ		КЦГ		КЦГ и ЭИМ	
	$\bar{x} \pm t \times S\bar{x}$	$S\bar{x}$	$\bar{x} \pm t \times S\bar{x}$	$S\bar{x}$	$\bar{x} \pm t \times S\bar{x}$	$S\bar{x}$
Исходный этап	$0,139 \pm 0,025$	0,012	$0,140 \pm 0,029^*$	0,014	$0,126 \pm 0,021^*$	0,010
Наркоз	$0,131 \pm 0,011$	0,006	$0,144 \pm 0,026$	0,013	$0,129 \pm 0,014$	0,007
Через 15 мин	$1,173 \pm 0,151$	0,075	—	—	—	—
Через 1 ч	$1,155 \pm 0,115^{**}$	0,057	—	—	—	—
При $t = 32^\circ\text{C}$	—	—	$0,148 \pm 0,027$	0,014	$0,562 \pm 0,105$	0,052
Через 6 ч	$1,405 \pm 0,133^*$	0,066	$0,286 \pm 0,031^{**}$	0,015	$0,146 \pm 0,024^{**}$	0,012
Отогрев	$1,108 \pm 0,108^*$	0,053	$0,160 \pm 0,019^*$	0,010	$0,186 \pm 0,015^*$	0,07
Через 1 сут	$0,326 \pm 0,084^*$	0,042	$0,170 \pm 0,023^*$	0,012	$0,133 \pm 0,015^*$	0,07

* — значимо между двумя группами результатов,

** — значимо между тремя группами результатов.

Уровень значимости $\alpha = 0,05$.

Т а б л и ц а 2. Содержание простагландина Е в плазме крови животных с ЭИМ и КЦГ

Наименование этапа	ЭИМ		КЦГ		КЦГ и ЭИМ	
	$\bar{x} \pm t \times S\bar{x}$	$S\bar{x}$	$\bar{x} \pm t \times S\bar{x}$	$S\bar{x}$	$\bar{x} \pm t \times S\bar{x}$	$S\bar{x}$
Исходный этап	$11,453 \pm 1,214$	0,601	$11,118 \pm 0,165^{**}$	0,082	$10,482 \pm 1,483^{**}$	0,734
Наркоз	$12,352 \pm 1,568$	0,777	$10,458 \pm 1,028$	0,508	$10,347 \pm 1,176$	0,582
Через 15 мин	$21,317 \pm 1,596$	0,790	—	—	—	—
Через 1 ч	$25,052 \pm 1,840^{**}$	0,911	—	—	—	—
При $t = 32^\circ\text{C}$	—	—	$10,748 \pm 1,391$	0,689	$20,635 \pm 1,466^{**}$	0,726
Через 6 ч	$25,848 \pm 2,541^*$	1,259	$13,767 \pm 1,301^{**}$	0,644	$24,538 \pm 1,266^{**}$	0,627
Отогрев	$15,985 \pm 1,396^{**}$	0,692	$16,500 \pm 1,111^*$	0,550	$22,957 \pm 1,953^{**}$	0,967
Через 1 сут	$11,037 \pm 1,277^{**}$	0,632	$15,590 \pm 1,208^{**}$	0,598	$18,892 \pm 1,836^{**}$	0,909

* — значимо между двумя группами результатов,

** — значимо между тремя группами результатов.

Уровень значимости $\alpha = 0,05$.

Аналогичную динамику претерпевал и уровень циклического АМФ, содержание которого в период развития острого инфаркта миокарда на 451,8 % превышало нормальные показатели. После 1 и 6 ч развития острого инфаркта миокарда концентрация цАМФ в крови остается высокой и лишь через сутки снизилась до $23,583 \pm 4,019$ нмоль/л (табл. 3).

Применяемое охлаждение животных без перевязки коронарных сосудов вызывало умеренное повышение содержания в крови простагландинов Е через 6 ч после отогрева и через сутки наблюдения, в то время как концентрация $F_{2\alpha}$ не была подвержена существенным изменениям, и только спустя 6 ч после введения животных в гипотермию отмечалось увеличение его содержания в крови с $0,144 \pm 0,026$ нмоль/л до $0,286 \pm 0,031$ нмоль/л, уменьшившегося в процессе восстановления температуры тела до уровня

Таблица 3. Содержание цАМФ в плазме крови животных с ЭИМ и КЦГ

Наименование этапа	ЭИМ		КЦГ		ЭИМ и КЦГ	
	$\bar{x} \pm t \times S\bar{x}$	$S\bar{x}$	$\bar{x} \pm t \times S\bar{x}$	$S\bar{x}$	$\bar{x} \pm t \times S\bar{x}$	$S\bar{x}$
Исходный этап	$11,017 \pm 1,579$	0,782	$12,95 \pm 1,946$	1,046	$10,000 \pm 0,764$	0,379
Наркоз	$11,167 \pm 1,155$	0,572	$13,956 \pm 1,332$	0,716	$10,200 \pm 1,082$	0,536
Через 15 мин	$49,733 \pm 6,495^*$	3,217	—	—	$37,633 \pm 3,484^*$	1,726
Через 1 ч	$47,917 \pm 4,395^{**}$	2,177	—	—	—	—
При $t = 32^\circ\text{C}$	—	—	$7,876 \pm 1,269^{**}$	0,682	$15,267 \pm 2,850^{**}$	1,411
Через 6 ч	$42,317 \pm 3,804^{**}$	1,884	—	—	$11,138 \pm 1,565^{**}$	0,775
Отогрев	$34,417 \pm 3,675^{**}$	1,884	$20,467 \pm 3,136^{**}$	1,685	$9,667 \pm 1,103^{**}$	0,546
Через 1 сут	$23,583 \pm 4,019^*$	1,990	$11,536 \pm 1,217^*$	0,654	$22,217 \pm 4,061^{**}$	2,011

* — значимо между двумя группами результатов,

** — значимо между тремя группами результатов.

Уровень значимости $\alpha = 0,05$.

здоровых животных. Было отмечено снижение показателей цАМФ в крови при охлаждении организма, после отогрева — увеличение до $20,467 \pm 3,136$ и последующее уменьшение через сутки после КЦГ.

Проведение КЦГ при остром экспериментальном инфаркте миокарда приводило к существенному уменьшению уровня циркулирующего в крови простагландина $F_{2\alpha}$ по сравнению с тем же показателем у животных с экспериментальным инфарктом миокарда без охлаждения. Уровень простагландина $F_{2\alpha}$ при температуре тела 32°C составил $0,562 \pm 0,105$ нмоль/л, в то время как повышение концентрации простагландина Е было более существенным ($20,635 \pm 1,466$). Спустя 6 ч после проведения КЦГ отмечалось снижение уровня простагландина Е (см. табл. 1,2)

Восстановление температуры тела животных характеризовалось небольшим снижением концентрации простагландина Е, хотя количественно его содержание и через сутки было выше, чем в норме.

Через сутки после перевязки коронарной артерии и гипотермии содержание простагландина $F_{2\alpha}$ практически достигло исходного уровня (см. табл. 1) Как видно из таблицы 3, содержание цАМФ у этой группы животных повысилось до $37,633 \pm 3,484$, однако уже при температуре тела 32°C и через 6 ч охлаждения эти показатели существенно не отличались от исходных, а в период согревания концентрация цАМФ понизилась до $9,667 \pm 1,103$. В эти же сроки у животных с экспериментальным инфарктом миокарда, которым охлаждение не проводилось, концентрация цАМФ была значительно выше во все сроки наблюдения (см. табл. 3).

Таким образом, КЦГ при температуре тела животного 32°C на протяжении 6 ч при остром ЭИМ приводила к снижению выброса простагландина $F_{2\alpha}$ и уровня цАМФ при повышенном содержании в крови простагландина Е.

Простагландины играют фундаментальную биохимическую, биологическую и фармакологическую роль в деятельности многих клеток организма. Суммируя наиболее важные фармакологические и физиологические воздействия на сердечно-сосудистую систему можно выделить следующие основные аспекты их действия: уровень артериального давления, коронарный кровоток, инотропизм, сократимость и электрическую стабильность миокарда, а также степень деструкции клеток миокарда под влиянием ишемии. Одним из возможных биологических влияний простагландинов в организме является их способность подавлять эктопические нарушения ритма сердца. Антиаритмический эффект присущ большинству простагландинов и даже их предшественникам: линоленовой и арахидоновой кислотам.

Высокий уровень простагландинов группы F может свидетельствовать о нарушениях нейрогуморальной регуляции уровня артериального давления в организме [4]. Прессорное действие простагландинов группы F не связано с изменением симпатической активности, а обусловлено непосредственным действием на мышечные волокна сосудистых систем. К особен-

ностям действия простагландина $F_{2\alpha}$, высокий уровень которого выявлен, относится преимущественно венопрессорное действие [3], что играет важную роль в регуляции централизации кровообращения, интенсивности притока крови к сердцу и, следовательно, направлено на увеличение минутного объема крови. Кроме того, вероятно, реализуются и прямое инотропное действие простагландинов $F_{2\alpha}$, а также антиаритмические свойства. В отличие от указанных, простагландины группы Е вызывают дилатацию. Вазодилататорный эффект этой группы простагландинов хорошо известен и отмечен в коронарных, плечевых и почечных артериях [6]. Этот эффект простагландинов группы Е значительно сильнее, чем нитроглицерина, ацетилхолина, изопреналина и гистамина. Что касается вазодепрессорного действия простагландина Е, то это действие не устраняется атропином, антигистаминами препаратами и бета-адренергической блокадой.

Результаты наших исследований, свидетельствующие о резком повышении содержания простагландина E_1 , следует рассматривать как компенсаторную реакцию, направленную на увеличение коронарного кровотока и кровообращения в других жизненно важных органах в наиболее острой фазе инфаркта миокарда. Возникает вопрос о происхождении этих изменений и их физиологическом смысле. Высвобождение простагландинов в тканях под влиянием острой ишемии показано в экспериментах на почках собак. Обнаружено также усиление синтеза простагландинов под влиянием гипоксии, расслабления миокарда при повышенном притоке крови к сердцу, стимуляции вагуса, применении АТФ и ацетилхолина [5]. Установлено также повышение высвобождения из зоны ишемии как простагландинов F, так и Е [1]. При этом обнаружение и поступление в кровь простагландина Е увеличивается также и в интактной ткани сердечной мышцы.

Физиологическое значение высвобождения простагландинов сердца при инфаркте миокарда до настоящего времени неясно. Они могут вовлекаться в процессы местной регуляции коронарного кровотока и оказывать влияние на регионарную гемодинамику сосудистых бассейнов.

Местное действие простагландинов Е приводит к увеличению аденозина [2]. Так как аденозин является регулятором коронарного кровотока, то отсюда следует вывод о существовании взаимосвязей простагландинов и аденозина в их влиянии на коронарный кровоток. Другим положительным свойством простагландина Е является способность усиливать кровообращение в ишемической зоне. Простагландины обладают также благоприятным действием на процессы электрической стабильности ишемического миокарда. Простагландин Е восстанавливает нормальный синусовый ритм и понижает частоту нарушений ритма при экспериментальном инфаркте миокарда у собак [6].

Длительное поддержание повышенного содержания цАМФ, особенно в группе животных с ЭИМ, может быть связано с необходимостью проявления метаболических эффектов катехоламинов, которые при необходимости быстро повышают его концентрацию. С участием цАМФ катехоламины влияют на метаболизм сердца путем усиления притока окисляемых субстратов. Существенное понижение концентрации цАМФ у животных с инфарктом миокарда, которым проводилась КЦГ, мы связываем с адаптационными механизмами минимализации метаболических процессов в миокарде в условиях сниженного уровня функционирования.

Приведенные нами факты позволяют прийти к заключению, что ишемия миокарда, возникающая при инфаркте миокарда, сопровождается изменением синтеза и высвобождением простагландинов и цАМФ. Выраженность и характер этих изменений применительно к группе простагландинов отражает степень гемодинамических и метаболических изменений, обусловленных нарушением компенсаторно-приспособительных механизмов.

Краниocereбральная гипотермия при этом в значительной мере модифицирует обмен и высвобождение простагландинов, приводя к преимущественному накоплению простагландина Е, обладающего кардиозащитным действием на миокард.

1. Berger H. J., Zaret B. L., Speroff L., Cohen L. S., Wolfson S. Cardiac prostaglandin release during myocardial ischemia induced by atrial pacing in patient with coronary artery disease // *Am. J. Cardiol.*— 1977.— 39.— P. 481—486.
2. Berger H. J., Zaret B. L., Speroff L. Regional cardiac prostaglandin release during myocardial ischemia in anesthetized dogs // *Circulat. Res.*— 1976.— 38.— P. 566—571.
3. Du Charme D. W., Weeks J. R. Cardiovascular pharmacology of prostaglandin F_2 , a unique pressor agent // *Prostaglandins, Nobel Symposium 2.* (Bergstrom S., Samuelson B., ed.).— New York: Interscience, 1967.— P. 173—181.
4. Karim S. M. M. (ed.) *Prostaglandins: chemical and biochemical aspects.*— Baltimore, 1976.— 232 p.
5. Malik K. U., McGiff J. C. Modulation by prostaglandins of adrenergic transmission in the isolated perfused rabbit and rat kidney // *Circ. Res.*— 1975.— 36.— P. 599—609.
6. Nakano J., McCurdy J. R. Cardiovascular effects of prostaglandin E_1 // *J. Pharmac. Exp. Ther.*— 1967.— 156.— P. 538—547.

Харьковский медицинский институт,
Институт проблем криобиологии и
криомедицины АН УССР, г. Харьков

Поступила 12.06.85

УДК 542.27.01.611.441

**Я. Х. Туракулов, И. Р. Мухамедзянова, С. И. Исмаилов,
Т. П. Ташходжаева**

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИИ ТИРЕОИДНОЙ ТКАНИ ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

Интерес к изучению влияния сверхнизких температур на функциональное состояние щитовидной железы обусловлен доказанной возможностью ее трансплантации после криоконсервации и реконсервации с целью компенсации гипо- и атиреоза [4,5]. Установлено, что процесс аккумуляции йода в щитовидной железе обладает достаточно высокой устойчивостью к действию низкотемпературного (-196°C) консервирования [3, 4, 6], в то время как биосинтез белков обнаруживает заметную чувствительность к данному воздействию [1].

Целью настоящей работы явилось исследование поглощения ^{14}C — глицина, ^{131}I и способности к образованию йодированных аминокислот *de novo* срезами тиреотоксически измененной щитовидной железы после ее криоконсервации и реконсервации.

Исследования проводили на срезах щитовидной железы больных диффузотоксическим зобом, подвергнутых криоконсервации сразу после удаления. Замораживание проводили двухэтапным методом (1-й этап — снижение температуры до -70°C со скоростью 8—10 град/мин, 2-й этап — замораживание до температуры -196°C со скоростью 80 град/мин), в качестве криопротектора использовали 10 %-ный димексид в растворе Хенкса [7]. Контролем служили щитовидные железы больных диффузотоксическим зобом и щитовидные железы кроликов, не подвергнутые криоконсервации. Срезы (100 мг) инкубировали в течение 2 ч при температуре 37°C в Кребс-Рингер-фосфатном буфере (pH 7,4) при насыщении кислородом с добавлением ^{14}C — глицина (5—10 μCi) или ^{131}I (5—10 μCi). Для определения процента включения метки в белки щитовидной железы срезы после инкубации гомогенизировали, белки осаждали добавлением 10 %-ной трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и считали активность на счетчике *Mark-3* (^{14}C — глицин) или *RacGamma* (^{131}I). Для определения состава и содержания йодистых компонентов срезы после инкубации с ^{131}I подвергали обработке проназой при температуре 37°C в течение 24 ч с использованием фосфатного буфера pH 8.34.

Проводили трехразовую экстракцию йодированных аминокислот с использованием нормального и кислого бутанола и после высушивания подвергали хроматографическому разделению в сольвентной системе бутанол — этанол — 2N NH_4OH (5 : 1 : 2) на бумаге типа «М» восходящим способом. Для определения состава меченых ^{131}I соединений щитовидной железы хроматограммы контактно экспонировались с рентгенопленкой, для опре-

деления процентного содержания йодаминокислот хроматограммы разрезали на полосы шириной 2 мм. радиоактивность их считали на счетчике *RacGamma*, строили графики хроматографического разделения йодистых компонентов и определяли их процентное соотношение путем взвешивания площадей, соответствующих количественному распределению гормонов и сопоставляли их со стандартными кривыми для МИТ (монойодитирозин), ДИТ (дйодитирозин), J (неорганический йод), T₃ (трийодитиронин), T₄ (тироксин) [8].

Данные, полученные при использовании включения метки ¹⁴C-глицина в белки щитовидной железы, представлены в таблице 1. Из результатов видно, что включения метки в срезы щитовидной железы больных диффузным токсическим зобом достоверно не отличаются от включения ¹⁴C-глицина в срезы щитовидной железы кроликов. Процент включения ¹⁴C-глицина в срезы щитовидных желез больных диффузным токсическим зобом в два раза выше, чем в железах, подвергнутых криоконсервации.

Таблица 1. Активность включения ¹⁴C-глицина в белки щитовидной железы

Группа	Вид материала	n	% включения ¹⁴ C-глицина M ± m	P
1	Щитовидная железа кролика (контроль)	5	1,06 ± 0,12	
2	После операционная щитовидная железа; диффузотоксический зоб (контроль)	4	1,45 ± 0,33	Не достоверно относительно гр. 1
3	Криоконсервированная щитовидная железа; диффузотоксический зоб	7	0,71 ± 0,13	Достоверно (0,05) относительно гр. 2

Данные, полученные при исследовании включения метки ¹³¹I в белки щитовидной железы, представлены в таблице 2. Из таблицы видно, что включение ¹³¹I в срезы щитовидной железы больных диффузным токсическим зобом происходит значительно активнее, чем в срезы щитовидной железы кролика. Включение же радиоактивного йода в срезы криоконсервированной щитовидной железы не отличается от включения его в срезы, не подвергнутые криоконсервации. Эти результаты, свидетельствующие о том, что криоконсервация, снижая активность биосинтеза белка, не изменяет способности щитовидной железы к фиксации йода, соответствуют данным литературы [2,4].

Таблица 2. Включение ¹³¹I в белки щитовидной железы

Группа	Вид материала	n	% включения ¹³¹ I M ± m	P
1	Щитовидная железа кролика (контроль)	4	0,44 ± 0,05	
2	Послеоперационная щитовидная железа; диффузотоксический зоб (контроль)	4	1,75 ± 0,18	Достоверно (0,001) относительно гр. 1
3	Криоконсервированная щитовидная железа; диффузотоксический зоб	9	1,76 ± 0,24	Не достоверно относительно гр. 2

Результаты исследования процентного содержания йодированных соединений в срезах щитовидной железы после двухчасовой инкубации их с ¹³¹I представлены в таблице 3. Видно, что за 2 часа инкубации щитовидной железы кролика наибольшее количество метки находится в составе йодтирозинов, в составе же йодтиронинов количество метки незначительно. По составу йодистых компонентов срезы послеоперационной щитовидной железы отличаются от срезов щитовидной железы кролика большим количеством йода. Срезы криоконсервированной железы имеют состав йодистых компонентов, аналогичный составу их в неконсервированной железе. Подсчет коэффициентов интенсивности гормонообразования $\frac{\text{ДИТ}}{\text{МИТ}}$ и

$\frac{T_4 + T_3}{\text{ДИТ} + \text{МИТ}}$ показывает, что значение этих коэффициентов для криоконсервированной железы ниже, чем в незамороженной железе.

Т а б л и ц а 3. Содержание йодистых компонентов в срезах щитовидной железы при инкубации их с ^{131}J

Вид материала	Йодистые компоненты, %							ДИТ МИТ	$\frac{T_3+T_4}{\text{МИТ}+\text{ДИТ}}$
	n	ДИТ	МИТ	J	T_4	T_3	X-компо- ненты		
Щитовидная железа кролика (контроль)	5	$9,6 \pm 1,21$	$23,7 \pm 3,51$	$17,8 \pm 0,94$	$9,2 \pm 1,35$	$7,1 \pm 0,84$	$25,8 \pm 3,86$	0,40	0,49
Послеоперационная щитовидная железа; диффузнотоксический зоб (контроль)	4	$7,96 \pm 0,84$	$14,7 \pm 2,1$	$39,8 \pm 5,6$	$6,7 \pm 0,84$	$3,2 \pm 0,52$	$19,5 \pm 3,21$	0,54	0,43
Криоконсервированная щитовидная железа; диффузнотоксический зоб	9	$9,8 \pm 0,62$	$29,2 \pm 2,12$	$27,4 \pm 2,81$	$3,9 \pm 0,41$	$3,3 \pm 0,28$	$24,92 \pm 0,19$	0,33	0,18

П р и м е ч а н и е: X-компонент—продукт превращения неорганического йода, образовавшегося в ходе дейодирования, n—число опытов.

В литературе имеются лишь косвенные данные, касающиеся влияния криоконсервации на способность щитовидной железы к биосинтезу гормонов. В частности, положительные выводы о способности к гормонообразованию были сделаны на основе работ по аутоимплантации щитовидной железы человека, в результате которой нивелировались клинические проявления гипотериоза [4].

Результаты наших экспериментов показывают, что срезы тиреотоксической железы после криоконсервации и реконсервации сохраняют способность к образованию йодированных соединений, идентичных обнаруженным в срезах неконсервированной железы. Особенности их процентного соотношения в целом свидетельствуют о снижении интенсивности гормонообразования как на этапе образования ДИТ, так и на этапе образования йодтиронинов. Если учесть, что основным белком щитовидной железы является тиреоглобулин, можно полагать, что снижение интенсивности белкового синтеза в щитовидной железе отражает понижение способности к образованию тиреоглобулина. Таким образом, проявляется четкая корреляция в снижении показателей биосинтеза белка и интенсивности гормонообразования в криоконсервированной железе.

Суммируя полученные экспериментальные данные, характеризующие влияние сверхнизкой температуры на основные биохимические показатели функции тиреотоксической щитовидной железы, можно заключить, что после криоконсервации и реконсервации в ней не изменяется способность к поглощению йода и, снижаясь, сохраняется способность к биосинтезу белка и образованию тиреоидных гормонов *de novo*.

1. Гулевский А. К., Чуйко В. А., Калько А. И. Биосинтез суммарных белков в срезах щитовидной железы при замораживании (-196°C) и оттаивании ($+37^\circ\text{C}$) // Актуальные вопросы криобиологии и криомедицины.— Киев : Наук. думка, 1974.— С. 45—47.
2. Гулевский А. К., Переверзев Н. П., Белоус А. М. Влияние ультранизких температур (-196°C) на биосинтез суммарных белков в срезах внутренних органов в эксперименте // Актуальные вопросы криобиологии и криомедицины.— Киев : Наук. думка, 1974.— С. 47—49.
3. Мицкевич М. С. Восстановление функциональной активности щитовидной железы после глубокого охлаждения (-196°C) // Изв. АН СССР. Сер. Биол., 1958.— № 2. С. 149—160.

4. Пушкарь Н. С., Чуйко В. А., Цариковская Н. Г. Низкотемпературное консервирование и аутоимплантация щитовидной железы человека // Актуальные в опрос криобиологии и криомедицины.— Киев : Наук. думка., 1981. — С. 110 — 115.
5. Пушкарь Н. С., Чуйко В. А., Утевский А. М. Консервация и трансплантация эндокринных органов и тканей.— Харьков, ХГУ, 1981.— С. 2—28.
6. Смит О. Биологическое действие замораживания и переохлаждения.— М. : Изд-во иностр. лит., 1963.— 343 с.
7. А.с. 935050 СССР, МКИ² А 01 № 1/02 Способ криоконсервирования щитовидной железы человека / А. М. Утевский, В. А. Чуйко, А. Ю. Петренко и др.— Оpubл. 15.06.82, Бюл. № 22.
8. Shigenobu Nagataki, Kazuo Shizume, Kiku Nakao. Effect of chronic graded doses of iodine on thyroid hormone synthesis // Endocrinology, 1966.— 79.— P. 667.

Институт биохимии АН УзССР,
Научно-исследовательский институт
краевой медицины МЗ УзССР,
г. Ташкент

Поступила 25.11.84

УДК 57.043:615.373.014.41

**А. А. Цуцаева, В. М. Маркова, Р. К. Хайкин,
Г. Г. Юрченко, В. Ф. Рындин**

ДЛИТЕЛЬНОЕ ХРАНЕНИЕ ПРОТИВОСТОЛБНЯЧНЫХ СЫВОРОТОК В ЖИДКОМ АЗОТЕ

Иммунные сыворотки, выпускаемые в жидком виде, в соответствии с межреспубликанскими техническими условиями (МРТУ—42 № 462—71) имеют срок хранения при температуре 4 °С три года с момента выпуска. Поэтому поиск эффективных способов консервирования сывороточных препаратов остается до настоящего времени актуальным. В этой связи целью данной работы было изучение специфических свойств противостолбнячной сыворотки, хранившейся на протяжении девяти лет в жидком азоте под защитой криопротектора полиэтиленоксида с молекулярной массой 400 (ПЭО-400).

Замораживали сыворотки в полиэтиленовых ампулах объемом 1,5 мл по разработанной в Институте проблем криобиологии и криомедицины АН УССР программе [3]. После замораживания ампулы переносили в камеру хранения с жидким азотом. Отогрев производили в водяной бане при температуре 41 °С. Контролем служили сыворотки, которые хранились в условиях, обычных для хранения биологических препаратов в учреждениях

Таблица 1. Влияние условий и сроков хранения на специфическую активность противостолбнячных сывороток

№№ п/п	Условия хранения			Степень снижения титра антитоксина в процессе хранения, годы					
	темпе- ратура, °С	концен- трация ПЭО, 400, %	исходный титр, МЕ	1	2	3	4	7	9
1	4	0	>2000	9,30 P=10,121	21,20 P=43,145	25,20 P=34,873	32,50 P=44,490	39,20 P=28,983	39,60 P=39,581
			≤2000	9,90 P=37,329	15,70 P=68,238	17,00 P=42,749	21,10 P=45,864	22,20 P=50,250	27,80 P=42,243
2	—196	0	>2000	9,71 P=10,121	13,42 P=43,145	14,94 P=31,967	23,49 P=44,490	24,40 P=28,983	24,90 P=43,375
			≤2000	7,63 P=22,947	7,25 P=12,761	7,60 P=12,746	7,60 P=14,368	9,48 P=32,368	10,00 P=32,727
3	—196	5	>2000	2,65 P=2,357	2,67 P=2,126	2,67 P=2,126	2,38 P=2,126	2,67 P=2,126	4,20 P=3,968
			≤2000	1,06 P=1,253	2,12 P=1,984	2,56 P=2,007	2,56 P=2,007	2,99 P=2,756	3,30 P=2,823
4	—196	10; 15	>2000	0	0	0	0	0	0
			≤2000	0	0	0	0	0	0

Примечание: Титр антитоксина противостолбнячной сыворотки представлен в процентах, P—показатель значимостей различий (критическое значение показателя значимости равно 1,645).

практического здравоохранения (в холодильнике при температуре 4 °С в стеклянных ампулах), а также сыворотки, подвергавшиеся замораживанию до температуры —196 °С без криопротектора.

После отогрева определяли авидность сывороток [2], рН, безвредность, стерильность, пирогенные свойства; титр антитоксина определяли по методикам МРТУ — 42 № 462—71. Полученные данные обрабатывали с помощью ЭВМ СМ—1 по различным программам, разработанным отделом автоматизации исследований ИПКиК АН УССР. Было заморожено 45 серий противостолбнячных сывороток под защитой 5, 10 и 15 % ПЭО—400. Биологическую полноценность криоконсервированных сывороток контролировали спустя 1, 2, 3, 4, 7 и 9 лет хранения в жидком азоте.

Противостолбнячные сыворотки с исходным титром > 2000 МЕ, хранившиеся в жидком азоте в течение 9 лет без криопротектора, теряли специфическую активность в среднем на 24,9 %, в то время как «низкотитровые» сыворотки (< 2000 МЕ) — на 10,0 % (табл. 1). Снижение титра антитоксина сывороток, хранившихся при температуре —196 °С под защитой 5 % ПЭО—400, составило 4,2 % для сывороток с титром > 2000 МЕ и с титром < 2000 МЕ — 3,3 %. Повышая концентрацию ПЭО—400 до 10 и 15 %, удалось полностью предупредить снижение активности сывороток в течение всего срока хранения в жидком азоте — 9 лет. Среднее снижение титра сывороток этих же серий, хранившихся на протяжении 9 лет при температуре 4 °С в холодильнике, составило для препарата с исходным титром > 2000 МЕ — 39,6 % и с титром < 2000 МЕ — 27,8 %.

Специфическая особенность, изучаемая с помощью указанной методики, количественно определяется относительной долей исходного титра, выраженного в процентах:

$$x = \frac{T_n - T_c}{T_n} \cdot 100 \%,$$

где T_n — исходный титр противостолбнячной сыворотки, T_c — сохранившийся титр противостолбнячной сыворотки после длительного хранения.

Поскольку задача исследования состояла в изучении влияния условий и сроков хранения на специфическую активность сывороток, то статистическая обработка сводилась к сравнению качественных признаков (относительных долей), наблюдаемых при различных условиях, следующих трех факторов: условия хранения варьировались на 5 уровнях (при температуре 4 °С; —196 °С без криопротектора и при температуре —196 °С с ПЭО—400 в различной концентрации); сроки хранения варьировались на 6 уровнях (в течение 1, 2, 3, 4, 7 и 9 лет); величина исходного титра варьировалась на двух уровнях — > 2000 МЕ и < 2000 МЕ. Поскольку при сравнениях важно было учесть многочисленные наблюдения, полученные при титровании сывороток, то для статистического оценивания различий в титрах была выбрана оценка методом Кохнера [1] по комбинации четырехклеточных таблиц 2 × 2. В каждую таблицу включались данные об исходном и сохранившемся титрах сывороток при разных условиях эксперимента.

Количество таких таблиц в одном сравнении равно количеству исследуемых серий сывороток. Обработка сводилась к вычислению нормально распределенной статистики:

$$\hat{Z} = \frac{|\sum_{i=1}^{N_1} W_i D_i|}{\sqrt{\sum_{i=1}^N W_i P_i (1 - P_i)}}$$

где

$$W_i = \frac{T_{n_1} \cdot T_{n_2}}{T_{n_1} + T_{n_2}} \text{ для } i\text{-ой таблицы } 2 \times 2,$$

$$P_i = \frac{T_{c_1} + T_{c_2}}{T_{n_1} + T_{n_2}} \text{ для } i\text{-ой таблицы } 2 \times 2,$$

$$D_i = \frac{T_{c_1}}{T_{n_1}} - \frac{T_{c_2}}{T_{n_2}} \text{ для } i\text{-ой таблицы } 2 \times 2$$

и сравнению $\hat{Z}$ с критическими значениями показателя Z для заданного уровня значимости 0,1. Обработка проводилась по программе STAT8. Результаты сравнения представлены в таблице 1.

Сравниваемые условия эксперимента	Титр	
	сохранившийся	исходный
1-е условие эксперимента	T_{c_1}	T_{n_1}
2-е условие эксперимента	T_{c_2}	T_{n_2}

$T_{c_{1(2)}}$ — сохранившийся титр при первом и втором сравниваемых условиях; $T_{n_{1(2)}}$ — исходный титр при первом и втором сравниваемых условиях.

Авидитет по полноте связывания противостолбнячной сыворотки с токсином оценивался однозначным показателем:

$$Y = \frac{T_2}{T_1} \cdot 100,$$

где T_1 — фактический титр исследуемой сыворотки по реакции, равной контролю; T_2 — титр той же сыворотки по реакции на «гладко».

Для оценки влияния условий и сроков хранения на полноту связывания противостолбнячных сы-

вороток со столбнячным токсином проводился двухфакторный анализ с использованием множественных сравнений методом контрастов по Шеффе [4]. Обработка проводилась по программе STAT6. Результаты анализа, представленные в таблицах 2,3, показывают, что полнота связывания более всего зависит от условий хранения сыворотки: температуры, концентрации ПЭО—400 (коэффициент влияния равен 52,8 %).

Т а б л и ц а 2. Результаты множественных сравнений средних показателей полноты связывания столбнячного токсина с антитоксином противостолбнячных сывороток, хранившихся в различных условиях.

№№ п/п	Условия хранения				Сроки хранения, годы	Значение контраста	Показатель различия	Критическое значение	Результат сравнения отличий
	$T, ^\circ C$	Концентрация ПЭО-400, %	$T, ^\circ C$	Концентрация ПЭО-400, %					
1	—196	—	4	—	0,5—2,0	1,490	1,671	4,669	Незначимое
2	—196	—	—196	5;10;15	0,5—2,0	1,282	1,382	4,223	Незначимое
3	—196	10;15	—196	5	0,5—2,0	3,050	3,097	3,709	Незначимое
4	—196	—	4	—	2,0—9,0	4,383	4,912	4,669	Значимое
5	—196	—	—196	5;10;15	2,0—9,0	0,701	0,757	4,223	Незначимое
6	—196	10;15	—196	5	2,0—9,0	1,664	1,686	3,709	Незначимое

Т а б л и ц а 3. Результаты дисперсионного анализа по оценке влияния факторов, определяющих условия хранения противостолбнячных сывороток, на полноту связывания столбнячного токсина с антитоксином

Номер оценки	Факторы, определяющие условия хранения	Статистика Фишера	Критическое значение	Коэффициент влияния	Результат анализа влияния
1	Температура, ПЭО—400	22,606	1,986	52,8	Значимое
2	Сроки хранения	17,375	1,893	40,5	Значимое
3	Взаимодействие 1-го и 2-го факторов	1,869	1,478	4,4	Значимое

Существенное значение имеют и сроки хранения (коэффициент влияния равен 40,5 %). Комбинированное взаимодействие обоих факторов незначительное (коэффициент влияния равен 4,4 %). Из этого следует, что не имеет практического смысла выбирать условия хранения в зависимости от предполагаемых сроков хранения сывороток. При оценке влияния условий экспери-

мента на полноту связывания токсина с антитоксином противостолбнячной сыворотки достаточно было получить некоторые обобщенные оценки для сывороток, хранившихся до двух лет. Выбранные оценки содействуют получению ответов на следующие три вопроса: 1) оказывает ли значимое влияние на полноту связывания противостолбнячной сыворотки с токсином хранение при температуре -196°C по сравнению с хранением при температуре 4°C ; 2) оказывает ли значимое влияние на полноту связывания противостолбнячного антитоксина с токсином применение ПЭО—400 при хранении сыворотки в жидком азоте; 3) оказывает ли значимое влияние концентрация ПЭО—400 при хранении сывороток в жидком азоте.

Для получения таких оценок удобно было воспользоваться методикой множественных сравнений с помощью контрастов, составленных применительно к каждому из поставленных вопросов. Так, для ответа на первый вопрос — контраст K_1 равен:

$$K_i = \sum_{i=1}^{N_1} C_i S_{i_1} - \sum_{i=1}^{N_2} D_i S_{i_2},$$

где N_1 — количество средних, полученных в эксперименте при первом условии хранения (при температуре -196°C); N_2 — количество средних, полученных при втором условии хранения (при температуре 4°C); $S_{i_{1(2)}} = J_{i_{1(2)}}$ — средний показатель авидитета, полученный при одном i -ом условии эксперимента при 1-ом (2-ом) условии хранения; C_i , D_i — весовые коэффициенты, удовлетворяющие условиям:

$$\sum_{i=1}^N C_i = 1; \quad \sum_{i=1}^N D_i = 1.$$

Анализируя полученные результаты (см. табл. 2), можно сделать вывод о том, что на полноту связывания столбнячного токсина с антитоксином противостолбнячных сывороток значительное влияние оказывает температура после двух лет хранения, в то время как в первые два года после выпуска сывороток, хранившихся в таких же условиях, показатель различий ниже. Присутствие ПЭО—400 в сыворотках не оказывает влияния на полноту связывания столбнячного токсина с антитоксином.

Сыворотки, хранившиеся в течение 9 лет в жидком азоте с ПЭО—400 и без криопротектора, были апирогенны. После отогрева выборочно была проверена стерильность сывороток. Случаев загрязнения микрофлорой не было. рН криоконсервированных сывороток, хранившихся под защитой ПЭО—400, достоверно не изменялся ($6,9 \pm 0,4$).

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

- противостолбнячные сыворотки, хранившиеся в холодильнике в течение 9 лет при температуре 4°C , теряли специфическую активность на протяжении всего срока наблюдения независимо от первоначального титра (снижение титра составляло от 1,5 % до 10,4 % МЕ в течение года);

- противостолбнячные сыворотки с исходным титром > 2000 МЕ, хранившиеся в жидком азоте без криопротектора, теряли специфическую активность на протяжении всего срока наблюдения, а у сывороток с титром ≤ 2000 МЕ в этих условиях наблюдалось снижение титра только в первый год хранения при температуре -196°C на 7,63 %;

- при хранении сывороток в жидком азоте под защитой 5 % ПЭО—400 снижение титра составляло от 3,3 % до 4,2 % за 9 лет;

- замораживание с последующим хранением сывороток в жидком азоте под защитой 10 и 15 % ПЭО—400 обеспечивало сохранение ими исходного титра на протяжении всего срока наблюдения — 9 лет;

- установлено, что температура хранения 4°C и -196°C оказывает существенное влияние на полноту связывания токсина с антитоксином противостолбнячных сывороток;

— условия хранения сывороток не оказывают влияния на апирогенные свойства сывороток, их безвредность и рН.

1. Закс Л. Статистическое оценивание.— М. : Статистика, 1976.— 598 с.
2. Соловьев П. И. Вопросы титра и авидности антистолбнячных, антидифтерийных и аутоаллергических сывороток : Автореф. дис. ... докт. биол. наук.— Тбилиси, 1974.— 31 с.
3. Цуцаева А. А., Маркова В. М., Медведева Г. Г., Микулинский Ю. Е. Влияние низкотемпературной консервации на некоторые свойства анитоксической противостолбнячной сыворотки // Ж. микробиол.— 1977, № 7.— С. 71—75.
4. Шеффе Г. Дисперсионный анализ.— М. : Наука, 1980.— 512 с.

Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 19.12.83

УДК 541.128

А. И. Осецкий

ВЛИЯНИЕ ВЯЗКОСТИ СРЕДЫ НА СКОРОСТЬ НЕ ДИФфуЗИОННО-КОНТРОЛИРУЕМЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Низкотемпературные биохимические реакции, как правило, протекают в присутствии добавляемых в раствор (с целью снижения температуры кристаллизации) органических растворителей типа гликолей, полиолов, диметилсульфоксида [3, 7]. Введение криопротекторов существенно изменяет такие физико-химические свойства растворов, как вязкость, диэлектрическая проницаемость, кислотно-основное равновесие, что неизбежно влияет на каталитические функции находящихся в среде растворителя биомолекул и на кинетику проходящих с их участием реакций. Поэтому вопрос о влиянии среды на скорость низкотемпературных биохимических реакций

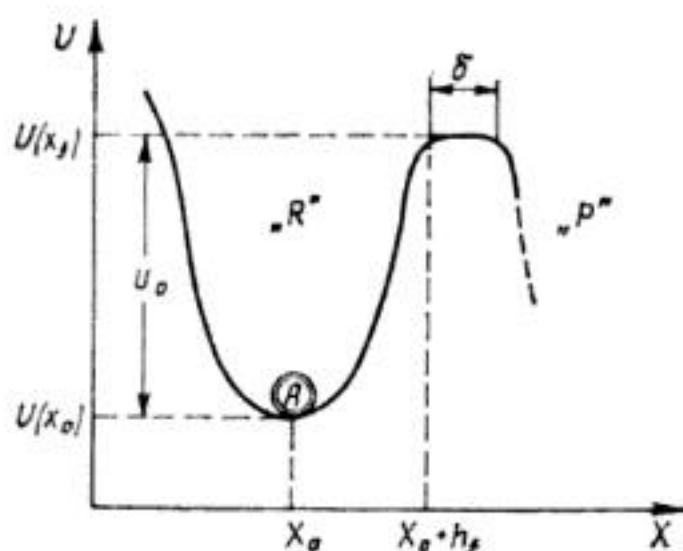


Рис. 1. Зависимость потенциальной энергии (U) реагирующей молекулы от расстояния.

стоит в ряду актуальных проблем современной биохимии. Вместе с тем число теоретических и экспериментальных исследований в этой области сравнительно невелико. Лишь представления о механизмах влияния на кинетику реакций диэлектрической проницаемости и кислотно-основного равновесия растворов в настоящее время сформулированы достаточно четко [3, 7]. Что же касается природы влияния на скорость не диффузионно-контролируемых реакций такого важного параметра, как вязкость растворителя, то она остается практически неизученной. Во многом это связано и с тем, что в рамках традиционных моделей теории скоростей реакций влияние вязкости среды на константу скорости K_v вообще не учитывается [4]. Сделанные же в отдельных работах попытки ввести величину вязкости растворителя η в выражение для K_v [8, 9] связаны с предположениями, заведомо не выполняющимися в реальных условиях. Действительно, влияние вязкости среды на скорость протекающих в ней химических реакций обычно рассматривается с точки зрения броуновского движения реагирующих молекул в некотором характерном для данной реакции потенциальном рельефе. Если считать, что вероятность успешного химического взаимодействия совпадает с вероятностью отклонения реагирующей молекулы на расстояние h_f от своего равновесного положения X_0 (рис. 1), то выражение для константы скорости химической реакции K_v , согласно представлениям теории флуктуаций [5], можно в одномерном случае записать в виде:

$$K_v = P\nu \exp\left(-\frac{h_f^2}{2\langle x^2 \rangle}\right), \quad (1)$$

где $\langle x^2 \rangle$ — среднеквадратичное отклонение молекулы от своего равновесного положения X_0 в процессе теплового движения; ν — частота равновесных тепловых колебаний молекулы, сравнимая с характерной частотой колебаний частиц среды ν' ; P — стерический фактор, учитывающий ориентацию реагирующих молекул при столкновении.

Величина $\langle x^2 \rangle$ определяется решением уравнения Ланжевена для броуновского движения одномерного гармонического осциллятора [5]:

$$\langle x^2 \rangle = \frac{\theta_F}{\alpha B}, \quad (2)$$

где α — упругая постоянная, определяющая форму некоторой усредненной потенциальной ямы, сопоставляемой с колебательным движением реагирующих молекул (А) (см. рис. 1); $B = \varphi \eta l$ — коэффициент трения, η — вязкость жидкости, l — характерный размер молекулы, φ — коэффициент, учитывающий форму молекулы ($\varphi = 1 - 10$).

Величина θ_F в (2) характеризует собой средний квадрат импульса силы, действующей на молекулу со стороны среды, и по определению равна [5]:

$$\theta_F = BkT, \quad (3)$$

где T — температура, k — постоянная Больцмана.

В свою очередь, для величины h_f^2 гармонического осциллятора имеем:

$$h_f^2 = \frac{2U_0}{\alpha}, \quad (4)$$

где U_0 — значение отсчитываемой от основного уровня $U(X_0)$ потенциальной энергии молекулы в точке $(X_0 + h_f)$, т. е. высота преодолеваемого реагирующей молекулой потенциального барьера (см. рис. 1). Подставив выражения (2), (3) и (4) в (1), получим типичное для константы скорости химической реакции в рамках теории столкновений соотношение

$$K_v = P\nu \exp\left(-\frac{U_0}{kT}\right), \quad (5)$$

из которого следует, что на частоту флуктуационного преодоления барьера реакции U_0 вязкость среды не влияет.

Зависимость K_v от η здесь можно получить только с помощью предположения, имеющего определенный физический смысл в рамках теории абсолютных скоростей реакций [4], оперирующей понятием переходного состояния или активированного комплекса. Согласно этой теории для реализации химического превращения необходимо, чтобы реагирующие молекулы находились некоторое время в области δ (см. рис. 1) вблизи вершины энергетического барьера в так называемом активированном состоянии. Тогда частоту попыток (ν_η) взвешенных в растворе молекул вступить в химическое взаимодействие можно трактовать как частоту попадания этих молекул в область δ . Если предположить, что перед попаданием в область δ молекула достаточно долго блуждает в потенциальной яме, можно записать:

$$\nu_\eta = \frac{1}{\langle t_f \rangle}, \quad (6)$$

где $\langle t_f \rangle$ — среднее время перемещения реагирующей молекулы из равновесного положения X_0 в положение $X_0 + h_f$. Величину $\langle t_f \rangle$ легко определить, используя методы расчета вероятности достижения границ блуждающей броуновской частицей [5, 8]. В результате получим

$$\langle t_f \rangle = \frac{h_f^2 \varphi \eta l}{kT}, \quad (7)$$

что для K_v дает

$$K_v = \frac{kTP}{\varphi \eta h_f^2 l} \exp\left(-\frac{U_0}{kT}\right). \quad (8)$$

Более строго эту задачу можно решить с помощью уравнения Планка-Фоккера для прохождения частицы через потенциальный барьер в условиях сильного трения [8]. Расчет с его помощью константы скорости химических реакций в вязких растворах дает совпадающее с (8) выражение, которое отличается от полученного ранее (5) тем, что величина предэкспоненциального множителя в нем при комнатной температуре для достаточно вязких растворов находится в пределах 10^6 — 10^8 с^{-1} и зависит от вязкости, уменьшаясь с ее ростом.

Поскольку используемая при выводе (8) модель имеет мало общего с реальными молекулярными механизмами активации молекул в конденсированных средах, в ряде работ [1, 6] были предприняты попытки получить аналогичный результат на основании несколько иных допущений. Не анализируя здесь применяемые в них подходы, отметим лишь наиболее существенный недостаток предсказываемой ими зависимости K_0 от η (8): она дает крайне низкие значения частоты попыток ν_η и является относительно

слабой, что не позволяет объяснить целый ряд особенностей ферментативного катализа и конформационной подвижности биомолекул в вязких средах.

Этот факт означает, что рассматриваемый до сих пор механизм взаимодействия активируемых биомолекул со средой не отражает главных деталей этого взаимодействия. В его основе лежит предположение об абсолютной статичности рассматриваемых вне среды реагирующих молекул, т. е. как пространственные перемещения молекул в целом, так и возможные конформационные изменения в самих

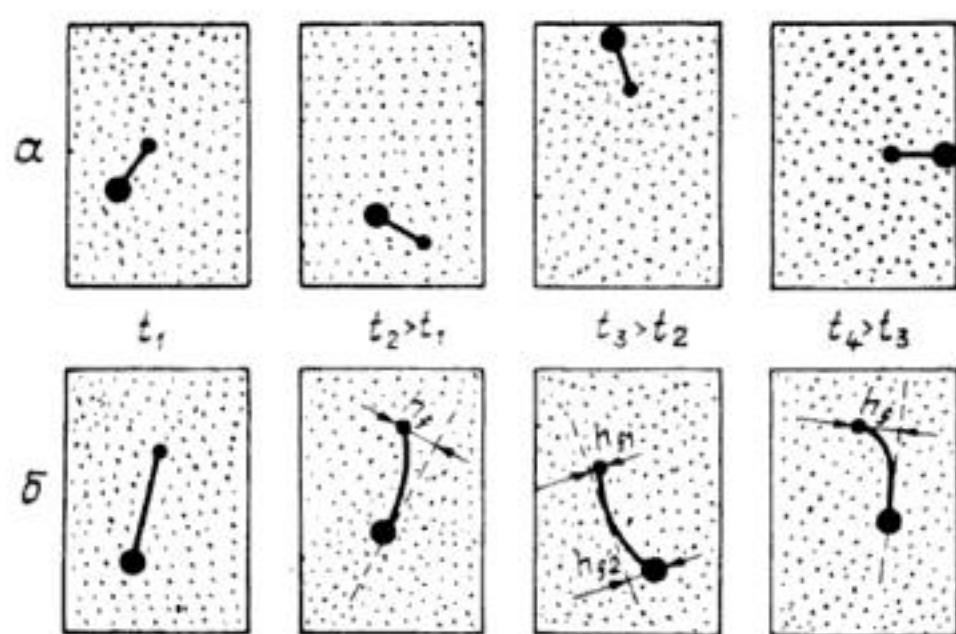


Рис. 2. Модели «пассивной» (а) и «активной» (б) молекул, взвешенных в перемещающей их среде.

молекулах связываются только с особенностями теплового движения частиц среды. В этом случае рассматриваемые модели представляют собой системы, состоящие из застывших «пассивных» частиц, помещенных в перемещающую их «активную» среду (рис. 2, а). Они достаточно хорошо отражают флуктуационную кинетику химического взаимодействия лишь простых неорганических молекул. В то же время известно, что реагирующие биомолекулы постоянно испытывают обратимые конформационные изменения, обусловленные флуктуациями в тепловом движении составляющих их атомов [2]. На частоту зарождения таких «собственных» конформационных флуктуаций сама среда влияния не оказывает. Ее влияние начинает проявляться позже: в момент развития флуктуации и связано с тем, что в процессе изменения конформации отдельные фрагменты молекулы перемещаются относительно среды в среднем на расстояния $\langle h_f \rangle \simeq 10^{-7}$ — 10^{-8} см. Подобная схема прямо противоположна рассмотренным выше моделям и фактически отражает поведение «активных» полимолекулярных частиц, взвешенных в «пассивной» среде (рис. 2, б).

Вычислим вероятность флуктуационных изгибов такой «активной» частицы, которая, в частности, может представлять собой каталитический центр молекулы фермента. В этом случае ее пространственные изменения в процессе образования фермент-субстратных комплексов удобно представить в виде относительно простой схемы, приведенной в работе [9] (рис. 3, а, б, в).

Пусть в течение времени t_0 — t_1 каталитический центр фермента имеет конформацию A_0 , схематически изображенную на рис. 3, а пунктирной кривой $e_{01} \dots e_{04}$. В равновесии фермент совершает малые колебания вокруг устойчивого положения $e_{01} \dots e_{04}$ с амплитудами $u(T) \ll h_f$, проходя со временем весь набор равновесных состояний $\Omega(A_0)$. Переход от одного состоя-

ния к другому происходит здесь как при изменении энергии какого-либо из составляющих фермент атомов, так и при изменении направления движения этого атома в пространстве. Все возможные направления движения атомов при этом для равновесных состояний $\omega_i (A_0)$ равновероятны, т. е. тепловое движение атомов молекулы в промежутке времени $t_0 - t_1$ является хаотическим. Такое движение не может привести к каким-либо деформациям молекулы, так как они, по определению, требуют согласованного смещения составляющих ее атомов. Рассматриваемую ситуацию можно изобразить графически, сведя координаты равновесных положений атомов фермента в двумерном случае в точку пересечения осей X и Y (см. рис. 3, а, б, в) и откладывая смещения этих атомов в процессе их теплового колебательного движения от этой точки. Тогда, обозначая их положения через промежутки времени, кратные $t_v = \frac{1}{v}$, светлыми кружками для атомов, лежа-

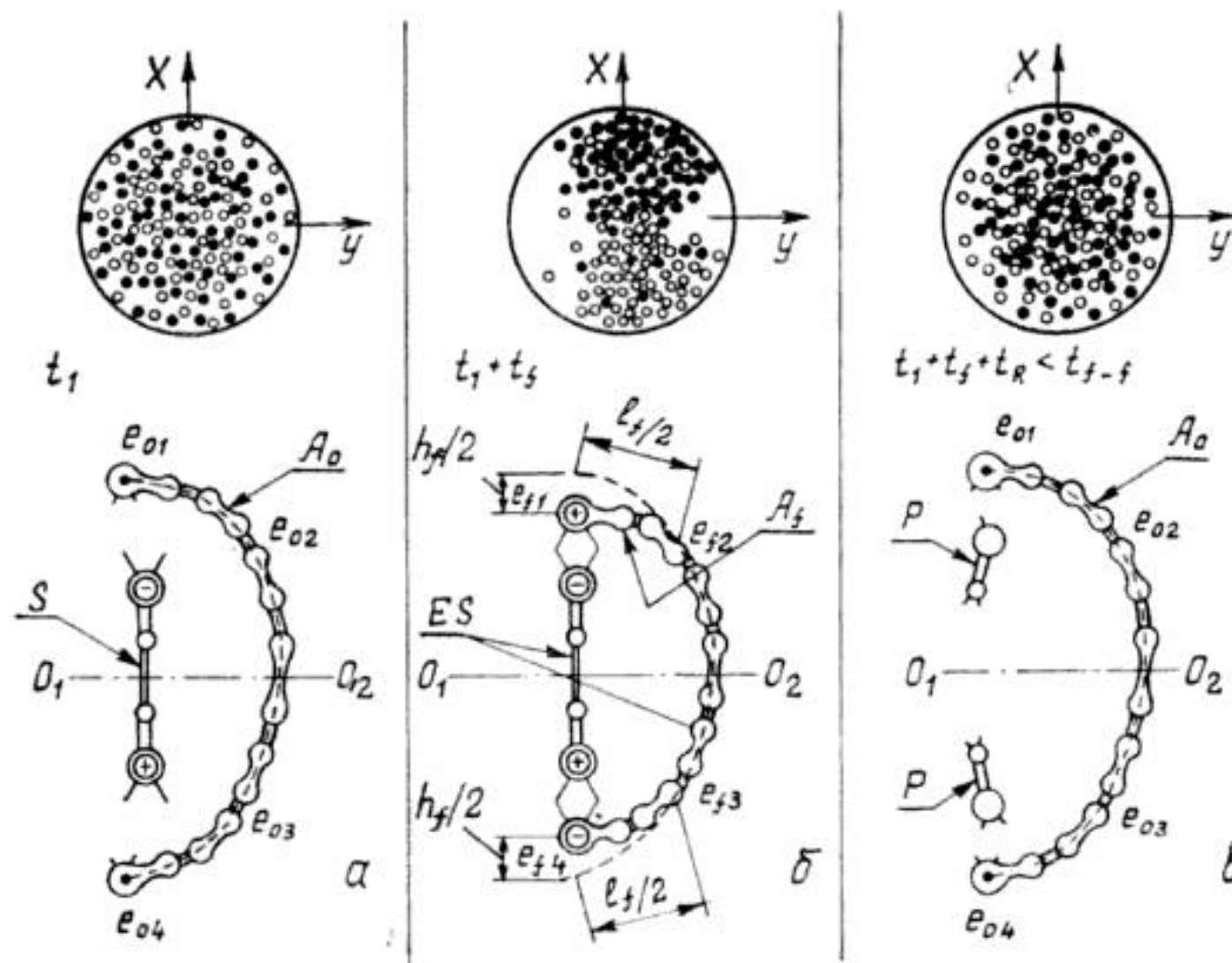


Рис. 3. (а, б, в). Схема флуктуационной деформации активного центра фермента в процессе образования фермент-субстратного комплекса $[ES]$ ($t_f - f$ — время между двумя последовательными флуктуациями).

щих выше некоторой условной линии $O_1 - O_2$, и черными — для атомов, лежащих ниже нее, мы получим дискретный набор конфигураций из равномерно перемешанных в плоскости XY светлых и черных кружков, каждая из которых соответствует определенному равновесному состоянию $\omega_i (A_0)$ (см. рис. 3, а, в). В рамках этой схемы легко представить атомарную структуру возникающих флуктуаций. Они связаны с резким уменьшением числа реализуемых направлений теплового смещения атомов молекулы фермента. В результате возникают ситуации, когда в отдельные промежутки времени $t_f \simeq t_v \ll t_{f-f}$ достаточно большие группы атомов фермента движутся не хаотически, а смещаются в одном или нескольких определенных направлениях, приводя к соответствующим микродеформациям молекулы. Графическое изображение этого процесса, сопровождающегося смещением отдельных фрагментов молекулы ($e_{f1} - e_{f2}$ и $e_{f3} - e_{f4}$) на расстояние $h_f \gg u$, представлено на рис. 3, б.

Происходящее в момент флуктуации уменьшение числа возможных направлений теплового смещения атомов фермента сокращает число доступных состояний системы в промежутке времени t_f от значения $\Omega (A_0)$ до значения $\Omega' (A_f) \ll \Omega (A_0)$, т. е. приводит к обратимому уменьшению ее энтропии на величину $\Delta S_0 \sim \ln \Omega' (A_f) - \ln \Omega (A_0)$. Это позволяет оценить

частоту W рассматриваемых флуктуационных изгибов молекулы в рамках термодинамической теории равновесных флуктуаций. Согласно принципу Больцмана [5], имеем:

$$W = \nu \exp(\Delta S_0/k). \quad (9)$$

Рассматривая молекулу фермента как некоторую подсистему Φ , взаимодействующую с остальной частью системы, включающей и среду, как с термостатом, и пренебрегая объемными эффектами в момент флуктуации, можно записать:

$$\Delta S_0 = - \frac{\Delta E_\Phi - \Delta S_\Phi T_0}{T_0}, \quad (10)$$

где ΔE_Φ и ΔS_Φ — изменение внутренней энергии и энтропии подсистемы Φ в процессе развития флуктуации, T_0 — температура термостата.

Для дальнейшей оценки величины W необходимо рассмотреть особенности взаимодействия активируемых фрагментов со средой. Поскольку средняя скорость $\langle v_f \rangle$ их смещения относительно среды достаточно высока

$$\langle v_f \rangle = \frac{\langle h_f \rangle}{t_f} \simeq (1 - 5) \cdot 10^4 \text{ см/с}, \quad (11)$$

это взаимодействие является весьма интенсивным и сопровождается непрерывным обменом энергией между молекулой фермента и окружающими ее молекулами среды.

Так как молекулы среды в процессе развития флуктуации движутся хаотически, происходит потеря энергии молекулой фермента за счет вязкостных эффектов. Эти эффекты обусловлены разностью в изменениях импульса тех молекул среды, которые в момент взаимодействия с ферментом смещаются в противоположных направлениях. Однако они коренным образом отличаются от обычных диссипативных процессов, поскольку являются полностью обратимыми. Последнее связано с тем, что рассматриваемые флуктуационные изгибы взвешенной в растворе биомолекулы осуществляются исключительно за счет энергии тепловых колебаний составляющих ее атомов $E_{\text{фк}}$. Поэтому передача окружающим ее молекулам среды некоторой энергии Q_η сопровождается уменьшением средней энергии теплового движения этих атомов на величину

$$\delta e_{\text{фк}} = \frac{Q_\eta}{n_\Phi}, \quad (12)$$

где n_Φ — число атомов, участвующих во флуктуации.

В результате по мере развития флуктуации возникает неравенство средних энергий теплового движения атомов фермента и окружающих его атомов среды. Это приводит к началу релаксационных процессов, в результате которых теряемая молекулой фермента энергия Q_η полностью ей возвращается за время t_R .

Таким образом, для протекающих в конденсированных средах флуктуаций особое значение имеет соотношение времен t_f и t_R . В случае, когда время релаксации t_R удовлетворяет условию

$$t_R \leq t_f, \quad (13)$$

соотношение для ΔS_Φ имеет вид:

$$\Delta S_\Phi = \frac{\Delta E_\Phi - Q_0}{T_0}, \quad (14)$$

где $Q_0 \equiv U_0$ — изменение потенциальной энергии фермента в процессе флуктуационного изгиба.

Подставляя (10) и (14) в (9), получим для W обычное классическое выражение (см. (5)).

Если же выполняется условие

$$t_R > t_f, \quad (15)$$

выражение для W будет принципиально отличным от известных классических результатов. Исходя из того факта, что в реальных системах всегда выполняется соотношение:

$$Q_\eta \ll E_\Phi, \quad (16)$$

где E_Φ — полная энергия составляющих каталитический центр фермента атомов, можно рассчитать W по известной термодинамической схеме. Условие (16) позволяет считать, что в подсистеме Φ в процессе флуктуации сохраняется равновесное распределение атомов по энергиям. В этом случае рассмотренное влияние среды можно формально свести к периодически возникающим изменениям температуры подсистемы Φ , коррелирующим с флуктуационными изгибами молекулы фермента. Температуру термостата при этом можно считать неизменной и равной T_0 . Тогда для изменения энтропии системы ΔS_0 следует записать:

$$\Delta S_0 = \frac{\Delta E_\Phi \delta e_{\Phi\kappa} - T_0 Q_0}{T_0 (T_0 - \delta e_{\Phi\kappa})}. \quad (17)$$

Подставляя (17) в (9) и учитывая, что $\Delta E_\Phi \simeq Q_\eta$ и $\delta e_{\Phi\kappa} \simeq \frac{Q_\eta T_0}{Q_0}$, окончательно получим:

$$W = v \exp \left(- \frac{Q_0 + Q_\eta}{kT_0} \right). \quad (19)$$

Величина $Q^* = Q_0 + Q_\eta$ представляет в (19) эффективную энергию активации, состоящую из классического слагаемого Q_0 , характеризующего собой высоту некоторого усредненного потенциального барьера реакции, и слагаемого Q_η , характеризующего влияние вязкости среды на процесс флуктуационного преодоления этого барьера. Появление в показателе экспоненты дополнительного, по сравнению с классической зависимостью, члена Q_η имеет довольно ясный физический смысл. Оно связано с тем, что совершаемая в процессе флуктуации работа Q_0 по преодолению потенциального барьера реакции не зависит от процессов теплообмена между молекулой фермента и растворителем, в котором она взвешена. Она определяется только начальной A_0 и конечной A_f конфигурациями данного фермента и для заданных состояний A_0 и A_f одна и та же независимо от вязкостных свойств растворителя. Поэтому в тех ситуациях, когда развитие флуктуации сопровождается уменьшением средней энергии составляющих фермент атомов, выполнение работы Q_0 возможно только при условии увеличения числа участвующих во флуктуации частиц от $n_\Phi \simeq Q_0/T_0$ до $n_\Phi + \Delta n_\Phi \simeq Q_0 + Q_\eta/T_0$. Увеличение же числа охваченных флуктуацией частиц ведет, по определению, к дополнительному уменьшению энтропии системы на $\Delta S_{0\eta} \sim \Delta n_\Phi$ и, согласно принципу Больцмана [5], к уменьшению вероятности возникновения флуктуаций данной мощности. Это и предсказывает выражение (19).

Подробный анализ известных в настоящее время данных по влиянию вязкости среды на скорость не диффузионно-контролируемых ферментативных реакций и конформационную подвижность биомолекул будет представлен в следующем сообщении.

1. Александров И. В., Гольданский В. И. О зависимости константы скорости элементарного химического процесса в кинетической области от вязкости среды // Хим. физика. — 1984. — 3, № 2. — С. 185—198.
2. Блюменфельд Л. А. Проблемы биологической физики. — М.: Наука, 1974. — 335 с.
3. Дузу П. Кробиохимия. — М.: Мир, 1980. — 283 с.
4. Лейдлер К. Кинетика органических реакций. — М.: Мир, 1966. — 349 с.
5. Леонтович М. А. Введение в термодинамику. Статистическая физика. — М.: Наука, 1983. — 416 с.
6. Нацик В. Д. Теория разупрочнения металлов при сверхпроводящем переходе // ЖЭТФ. — 1971. — 61, № 6. — С. 2540—2551.
7. Сергеев Г. Б., Батюк В. А. Кробиохимия. — М.: Химия, 1978. — 295 с.

8. *Тунцкий Н. Н.* Диффузия и случайные процессы.— Новосибирск : Наука, 1964.— 116 с.
 9. *Gavish B., Werber M. M.* Viscosity-dependent structural fluctuations in enzyme catalysis // *Biochemistry*.— 1979.— 18, N 7.— P. 1269—1275.

Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 04.02.85

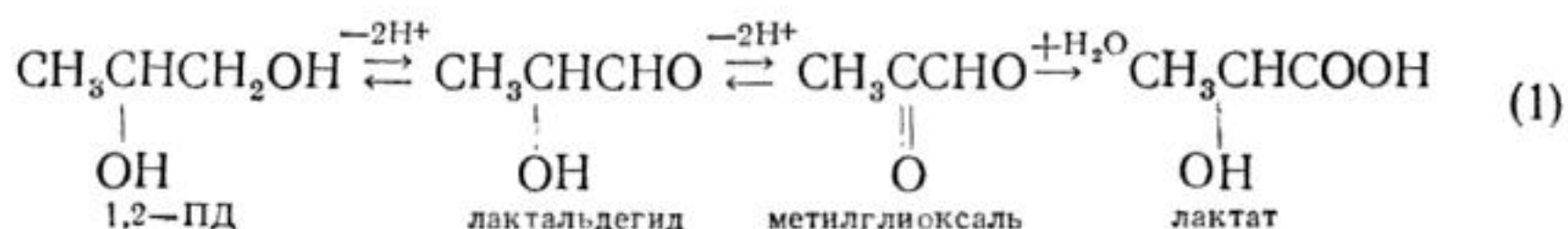
УДК 57.043:547.422

М. М. Лоевский, А. М. Белоус

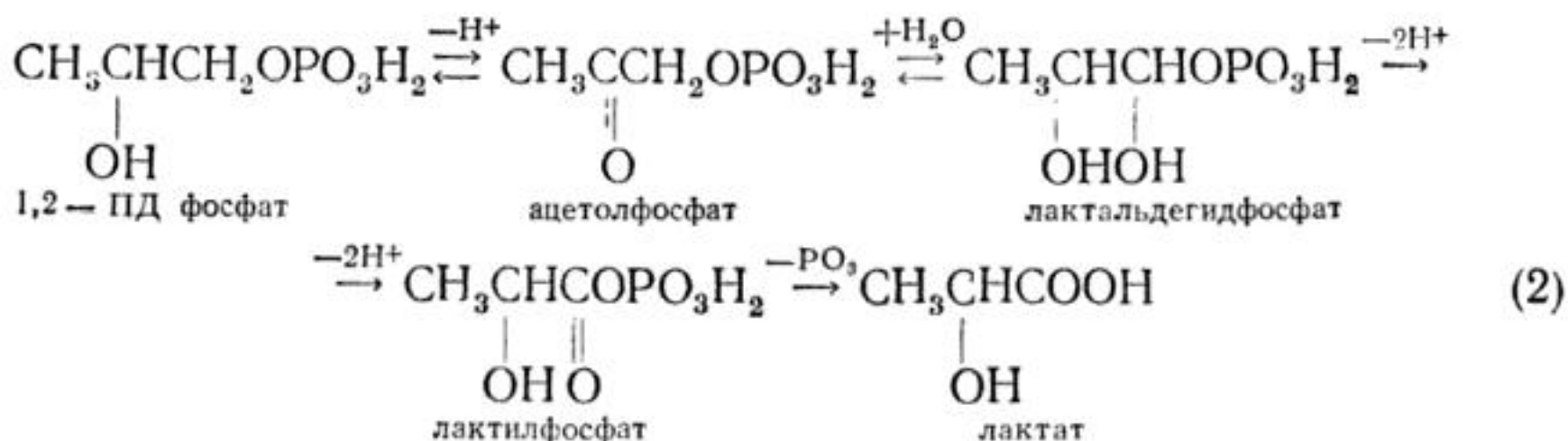
БИОЛОГИЧЕСКОЕ И КРИОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ 1, 2-ПРОПАНДИОЛА

Одной из важных задач криобиологии является поиск и разработка новых эффективных способов низкотемпературной консервации клеток и тканей. При криоконсервации биообъектов чаще всего используют глицерин, однако его применение ограничено рядом недостатков, в частности необходимостью удаления из реконсервированных клеток. Существенный интерес для криобиологов представляет 1,2-пропандиол (1,2-ПД), криозащитные свойства которого изучены и достаточно [3]. Испытания эффективности 1,2-ПД при криоконсервации клеток крови показали [2], что это соединение может быть перспективным криопротекторным веществом.

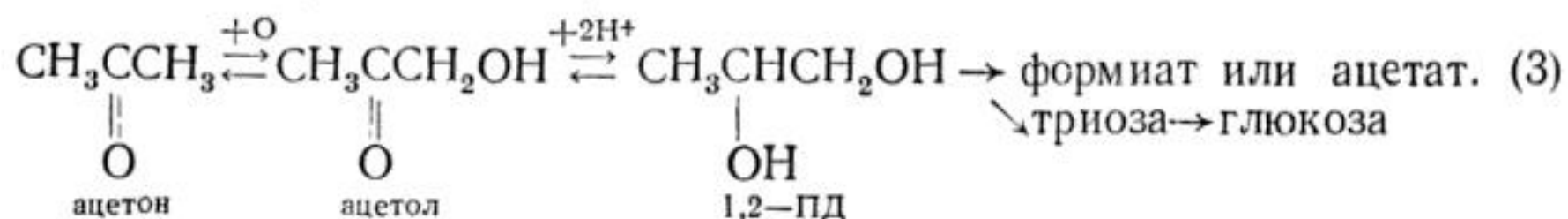
Метаболизм 1,2-пропандиола. Этот гликоль обнаружен в печени, мозге крупного рогатого скота, яйцах морского ежа и в мышцах кролика [5]. Окисление свободного гликоля осуществляется по следующему пути [5]:



Для распада фосфорилированной формы 1,2-ПД требуется большее число стадий:

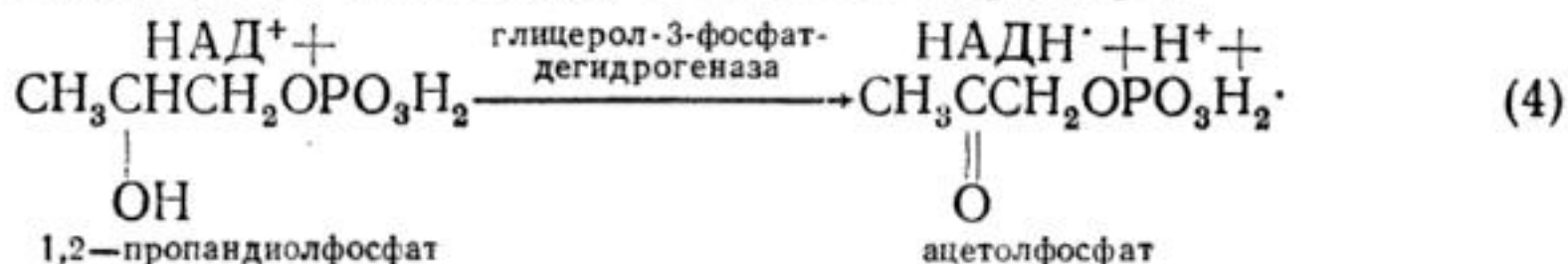


1,2-ПД или его фосфорилированные производные являются возможными промежуточными соединениями в метаболизме ацетона [5]. Радиоактивная метка ^{14}C -метильных групп ацетона инкорпорировалась в β -углерод серина, метильные группы холина и метионина. Конечными продуктами окисления 1,2-ПД являются формиат, ацетат или трехуглеродный предшественник (пируват, лактат):

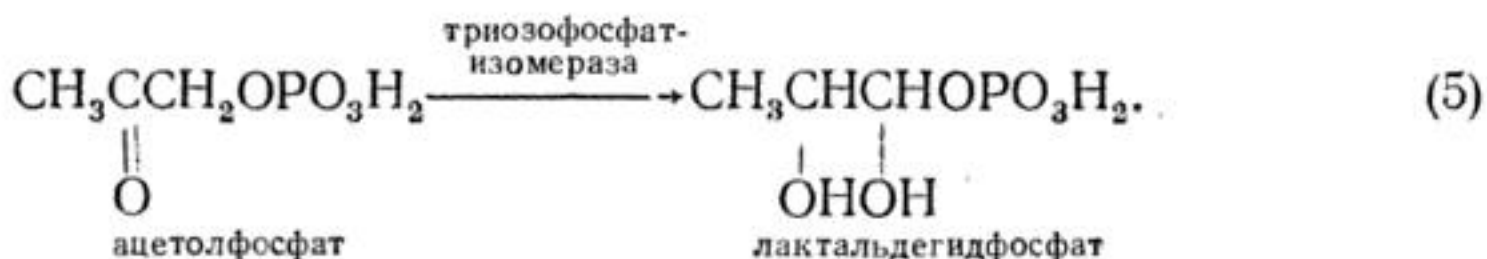


1,2-пропандиолфосфат стимулирует образование кетокислот (преимущественно пирувата) в гомогенатах печени крыс, а его нефосфорилированная форма не обладает подобным действием [5]. Распад фосфорилированного

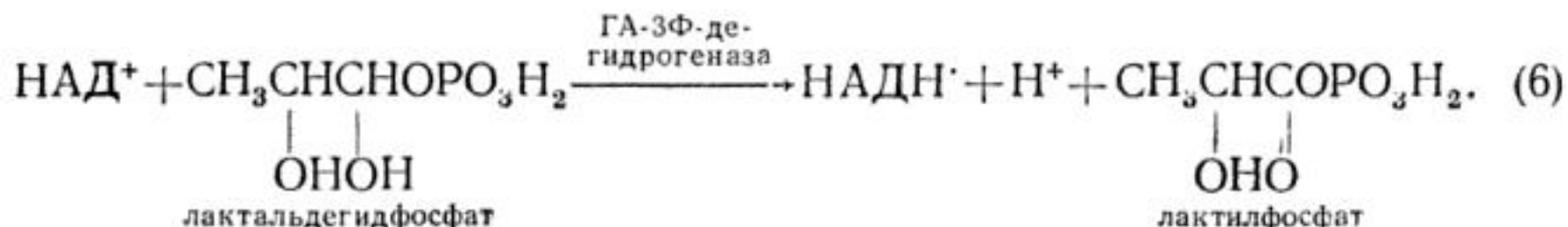
гликоля происходит при участии миогена А, обогащенного глицерол-3-фосфатдегидрогеназой [5] и НАД⁺ в качестве кофактора:



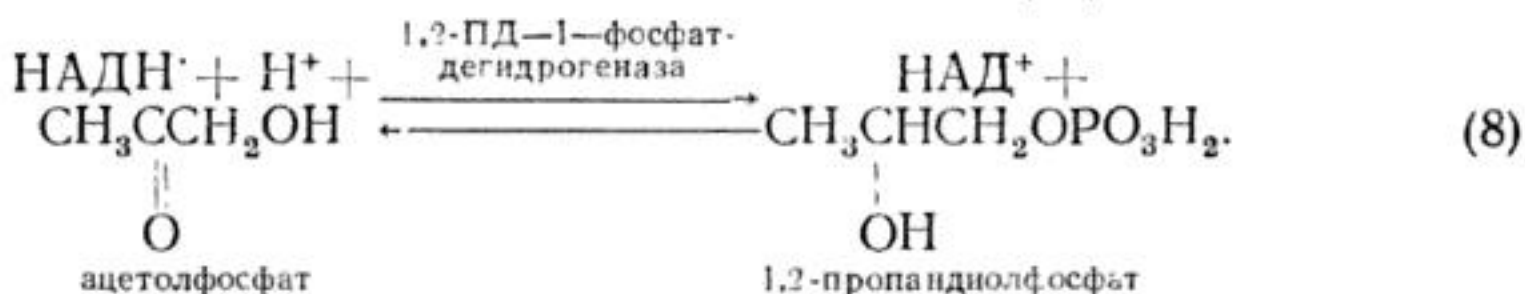
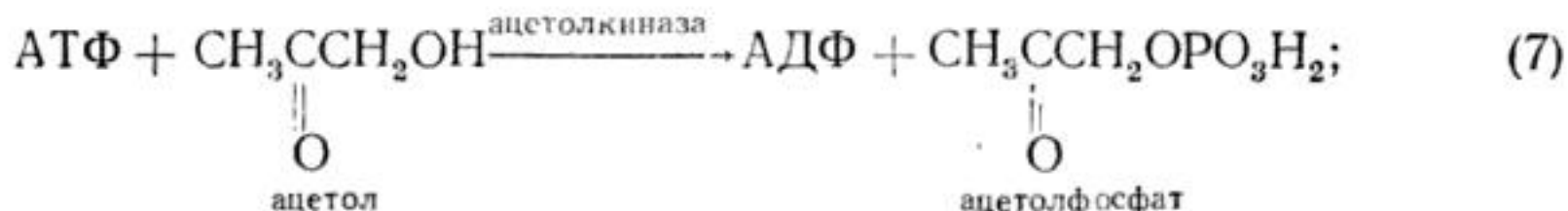
Ацетолфосфат является источником образования лактальдегидфосфата при добавлении триозофосфатизомеразы:



Лактальдегидфосфат окисляется далее *D*-глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназой до лактилфосфата:



В четвертой реакции в присутствии α -глицеролфосфатдегидрогеназы ацетолфосфат восстанавливается в 1,2-пропандиолфосфат. Обратная реакция осуществляется благодаря наличию специфического энзима, 1,2-пропандиол-1-фосфатдегидрогеназы [5]. Образование в тканях фосфорилированного гликоля, по-видимому, происходит следующим образом:



Из плаценты и семенных пузырьков крупного рогатого скота выделен фермент, обладающий стереоспецифичностью к *D*-форме 1,2-ПД и способный окислить его до лактальдегида [5].

В экспериментах *in vitro* показано [5], что фосфолипиды, подобные по своему строению α -лецитинам и α -кефалинам, могут быть синтезированы из 1,2-ПД.

Таким образом, биохимическое окисление 1,2-ПД *in vivo* может идти двумя путями [5]. Первый — распад до лактата через этап образования лактальдегида и метилглиоксаля, второй — окисление фосфорилированной формы гликоля через стадии образования ацетолфосфата, лактальдегидфосфата и лактилфосфата до лактата. При этом может образоваться также дезоксиальдегид-диола, пропиональдегид, лактальдегид, фосфолипиды, формиат или ацетат.

Действие 1,2-пропандиола на организм. 1,2-ПД обладает низкой токсичностью: при внутривенном введении ЛД-50 составляет 13 мл/кг для крыс и 6 мл/кг для кроликов. При пероральном введении 1,2-ПД ЛД-50 для крыс значительно выше и составляет 30 мл/кг. В зависимости от вида и пола животного, а также способа введения 1,2-ПД в 2—3 раза менее токсичен, чем глицерин [4].

В моче собак, получивших 8 мл/кг и 12 мл/кг 1,2-ПД в виде 50 %-ного водного раствора, быстро обнаруживается 12—45 % неизмененного 1,2-ПД. После введения в желудок коровы ^{14}C — 1,2-ПД через 24 ч 43,7 % метки находилось в составе выдыхаемого CO_2 ; 12,4 % — в молоке, 3,5—7 % — в моче и менее 0,1 — в фекалиях [5].

Таким образом, 1,2-ПД может выступать в виде глюкогенного агента, т. е. участвовать в синтезе глюкозы. При пероральном введении крысам 1,2-ПД в дозе 2,84 мл/кг в течение 30 дней существенных изменений в формуле крови не выявлено. Однако в ряде случаев отмечено уменьшение скорости оседания эритроцитов на 50 %, снижение общего количества лейкоцитов на 22,3 % и уровня восстановленного глутатиона на 11,3 % [4]. После введения 1,2-ПД в клетках на 38 % увеличивается содержание белка, активность кислой фосфатазы возрастает на 348 %, а Na^+ - K^+ - Mg^{++} -зависимой АТФ-азы на 233 %. Если крысам гликоль вводили в дозе 4 мл/кг на протяжении 30 дней, то никаких отклонений в содержании общих фосфолипидов, холестерина, триглицеридов и свободных жирных кислот плазмы крови, а также в концентрации фосфолипидов, триглицеридов и ганглиозидов печени выявлено не было [4]. Многократное введение гликоля голодающим крысам в интервале 6 ч стимулирует синтез гликогена в печени, т. е. этот препарат функционирует как потенциальная углеводная добавка, а его включение в состав высокожировой диеты увеличивает содержание гликогена и снижает содержание общих липидов печени [1]. При включении 1,2-ПД в высокоуглеводную диету изменений в содержании гликогена не происходило, однако наблюдалось повышение концентрации липидов печени [1]. Анализ метаболизма 1,2-ПД показывает, что это соединение является предшественником в синтезе углеводов и участвует в ферментативных реакциях на уровне триоз [1]. При этом повышается фосфатный потенциал ($[\text{АТФ}]/[\text{АДФ}] \cdot [\text{Ф}_n]$) и показатель окислительно-восстановительного состояния клеток ($\text{НАД}^+/\text{НАДН}$).

Криозащитные свойства 1,2-пропандиола. Этот гликоль обладает свойствами, необходимыми для проявления криопротекторного эффекта: легко проникает в клетки, обладает низкой токсичностью, эффективно связывает воду, имеет низкую эвтектическую температуру [3]. Стабильность аморфного состояния его водных растворов

Т а б л и ц а. Содержание катионов и органических фосфатов в эритроцитах после низкотемпературной консервации под защитой 1,2-пропандиола и глицерина на протяжении 120 ч гипотермического хранения в среде ЦНИИГПК 8 в

Исследуемые показатели	Срок хранения, ч		
	0	36	120
Цельная кровь (контроль)			
АТФ	100	$93,7 \pm 2,6$	$58,7 \pm 10,6$
K^+	100	$98,1 \pm 4,5$	$92,3 \pm 9,2$
Na^+	100	$100,3 \pm 9,3$	$112,9 \pm 5,5$
2,3-ДФГ	100	$80,6 \pm 11,7$	$68,3 \pm 9,0$
Криоконсервация с глицерином			
АТФ	$86,7 \pm 8,4$	$77,2 \pm 6,4$	$69,7 \pm 5,8$
K^+	$97,2 \pm 2,2$	$95,3 \pm 4,3$	$92,7 \pm 4,7$
Na^+	$103,1 \pm 7,6$	$121,1 \pm 5,1$	$140,1 \pm 11,2$
2,3-ДФГ	$89,9 \pm 6,8$	$58,2 \pm 7,4$	$54,2 \pm 4,1$
Криоконсервация с 1,2-пропандиолом			
АТФ	$96,5 \pm 5,2$	$88,6 \pm 4,2$	$65,2 \pm 6,2$
K^+	$98,4 \pm 2,3$	$96,1 \pm 3,7$	$89,6 \pm 6,3$
Na^+	$102,4 \pm 4,2$	$119,3 \pm 5,4$	$123,3 \pm 5,7$
2,3-ДФГ	$93,5 \pm 7,8$	$64,2 \pm 8,7$	$57,1 \pm 5,4$

За 100 % принят уровень контроля, который составляет $5,41 \pm 0,38$ для АТФ; $103,4 \pm 13,4$ для K^+ ; $10,67 \pm 0,78$ для Na^+ ; $12,2 \pm 1,3$ для 2,3-ДФГ, АТФ; 2,3-ДФГ — в мМ/гHb; K^+ , Na^+ — в мэкв/л

та: легко проникает в клетки, обладает низкой токсичностью, эффективно связывает воду, имеет низкую эвтектическую температуру [3]. Стабильность аморфного состояния его водных растворов намного выше, чем у других криопротекторов, присутствие 1,2-ПД повышает стабильность аморфного состояния других водных систем [3]. Показана эффективность 1,2-ПД при консервации различных клеток. Так, 7 %-ный раствор 1,2-ПД, использованный при замораживании спермы быков, баранов и индюков, в смеси с буферными растворами, позволял сохранять жизнеспособность клеток на более высоком уровне, чем ДМСО и глицерин. Но особенно эффективным 1,2-ПД оказался при замораживании эритроцитов человека [2]. Из таблицы видно, что при криоконсервации клеток 1,2-ПД

позволяет лучше поддерживать катионный баланс эритроцитов (Na^+ , K^+) и внутриклеточное содержание органических фосфатов (АТФ, 2-3-ДФГ), чем глицерин. Однако, 1,2-ПД, как и глицерин, не обеспечивает полного сохранения структурной целостности плазматической мембраны эритроцитов в процессе криоконсервации. Поэтому необходимо дальнейшее совершенствование ресуспендирующих сред, препятствующих развитию скрытых повреждений в мембране клеток после отогрева.

Таким образом, анализ собственных и литературных данных свидетельствует о том, что 1,2-ПД является малотоксичным соединением, которое легко метаболизирует в организме и эффективно защищает эритроциты при низкотемпературной консервации, а метод криозащиты эритроцитов с использованием 1,2-ПД [2] можно рассматривать как конкурирующий с традиционным способом криозащиты клеток глицерином.

1. Великий Н. Н., Пархомец П. К., Симонова Н. Я. Окислительно-восстановительное состояние клеток печени крыс, получавших в составе диеты 1,2-пропандиол // *Вопр. питания.* — 1975. — № 5. — С. 40—45.
2. А.с. 888896 СССР, МКИ³ А 01 N 1/02. Способ консервации эритроцитов / А. М. Воротилин, М. М. Гучок, В. К. Дворцовой и др. — Оpubл. 15.12.81, Бюл. № 46.
3. *Boutron P., Delage D., Roustit B. et al.* Ternary system with 1,2-propanediol — a new gain in the stability of the amorphous state in the system water — 1,2-propanediol-1-propanol // *Cryobiology.* — 1982. — 19, N 5. — P. 550—564.
4. *Hoenig V., Werner F.* Is propylene glycol an inert substance? / *Toxicol. Lett.* — 1980. — 5, N 6. — P. 389—392.
5. *Ruddick J. A.* Toxicology, metabolism and biochemistry of 1,2-propanediol // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 1972. — 21, N 1. — P. 102—111.

Институт проблем криобиологии и
криомедицины АН УССР, г. Харьков

Поступила 09.04.85

УДК 577.37

Е. А. Гордиенко, О. И. Гордиенко

О МЕХАНИЗМЕ ОСМОТИЧЕСКОГО ЛИЗИСА ЭРИТРОЦИТОВ

В работе [2] построена теория осмотического лизиса липидных везикул, возникающего в результате флуктуационного образования макроскопической поры в растянутом мембранном бислое. Из результатов этой работы следует, что свободная энергия деформации мембраны Φ (в единицах kT) как функция радиуса поры при больших растяжениях имеет вид, показанный на рис. 1, и равна:

$$\frac{\Phi}{kT} = \frac{\Gamma}{2kTS_0} (\Delta S - \pi a^2)^2 + \frac{2\pi\gamma a}{kT}, \quad (1)$$

где k — постоянная Больцмана, T — температура, Γ — коэффициент растяжения мембраны везикул, S_0 — площадь везикулы, соответствующая недеформированному состоянию мембраны (равновесному), ΔS — отклонение площади мембраны от равновесной, γ — линейное натяжение поры. Состояние системы $a = 0$ (см. рис. 1) соответствует отсутствию, а состояние $a = a_{II}$ — наличию квазиравновесной макроскопической поры радиуса a_{II} в мембране. Если в начальный момент времени система находится в состоянии, близком к $a = 0$, соответствующем локальному минимуму свободной энергии, то с течением времени она перейдет в состояние $a = a_{II}$, соответствующее глобальному минимуму. Для этого ей необходимо преодолеть энергетический барьер [3, 6]:

$$W_0 = \frac{\pi\gamma^2}{kT\sigma}, \quad \sigma = \Gamma \frac{\Delta S}{S_0}, \quad (2)$$

где σ — изотропное натяжение мембраны. Среднее время образования поры,

согласно [2], при заданном натяжении мембраны определяется выражением:

$$\tau = \mu_0^{-1} \exp\left(\frac{W_0}{kT}\right), \quad \mu_0 = hS_0\nu_0, \quad (3)$$

где h — толщина мембраны, а $\nu_0 \sim 2 \cdot 10^{38} \text{ м}^{-3}\text{с}^{-1}$ — характерная частота энергетических флуктуаций единицы объема липидной фазы, известная с невысокой точностью. Для эритроцита $h \sim 0,8 \cdot 10^{-8} \text{ м}$, $S_0 \sim 0,15 \times 10^{-9} \text{ м}^2$ и, следовательно, $\mu_0^{-1} \sim 4 \cdot 10^{-21} \text{ с}$.

В данной работе путем сопоставления экспериментальных данных Рэнда (представленных в [3,5]) с зависимостью, предсказываемой теоретической моделью, получено иное выражение для среднего времени флуктуационного образования поры в мембране эритроцита.

Из теории случайных марковских процессов известно, что среднее время перехода $\langle t \rangle(a)$ системы из состояния a , расположенного вблизи от

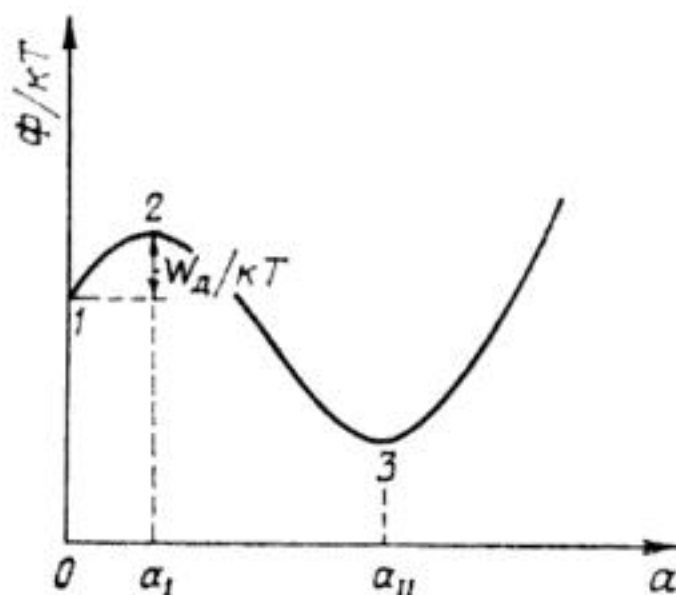


Рис. 1. Зависимость величины свободной энергии деформации растяжения мембраны эритроцита от радиуса поры.

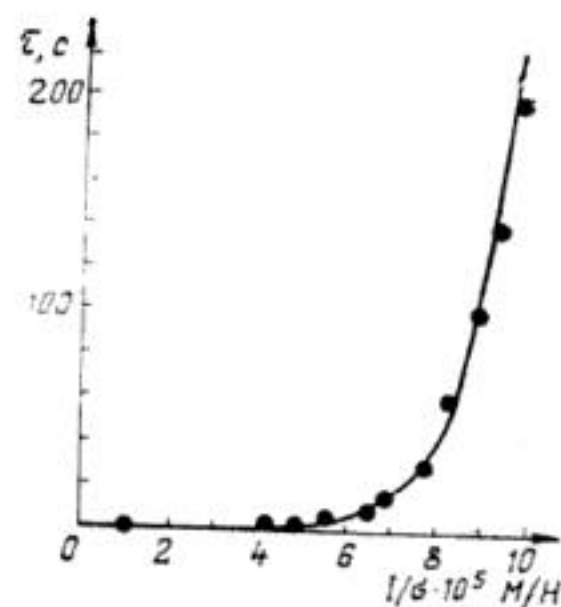


Рис. 2. Экспериментальная зависимость времени гемолиза (.) и теоретическая зависимость среднего времени флуктуационного образования мембранной поры (—) от обратной величины натяжения мембраны.

локального минимума 1, на вершину барьера 2, отделяющего 1 от другого минимума 3 (см. рис. 1), удовлетворяет дифференциальному уравнению [1, 4]:

$$\frac{d^2 \langle t \rangle}{da^2} - \frac{1}{kT} \frac{d\Phi}{da} \frac{d \langle t \rangle}{da} + \frac{1}{D(a)} = 0 \quad (4)$$

с граничными условиями

$$\langle t \rangle(a_I) = 0, \quad \frac{d}{da} \langle t \rangle(0) = 0, \quad (5)$$

где D — коэффициент диффузии в пространстве размеров поры. Решение уравнения (4) с граничными условиями (5) есть

$$\langle t \rangle = \frac{(kT)^{3/2}}{2\pi\gamma D(0)\sigma^{1/2}} \exp(\pi\gamma^2/kT\sigma). \quad (6)$$

Среднее время образования поры в мембране равно:

$$\tau = 2 \langle t \rangle = (kT)^{3/2} \exp(\pi\gamma^2/kT\sigma) / \pi\gamma D(0)\sigma^{1/2}, \quad (7)$$

так как с вершины барьера 2 система с равной вероятностью может перейти либо в направлении 1, либо в направлении 3 (см. рис. 1).

Как видно, среднее время образования поры в мембране зависит от двух параметров γ и $D(0)$. Отметим, что коэффициент Γ в формуле (7) в явном виде не фигурирует. Предполагая вслед за авторами работы [2], что в мембранах эритроцитов образование пор происходит в областях

чистого липида, принимаем, по данным [6], что $\gamma \sim 10^{-11}$ н. Коэффициент диффузии в пространстве размеров поры $D(0)$ в нашем случае является подгоночным параметром. На рис. 2 показаны экспериментально измеренные (черные кружки) [5] времена гемолиза эритроцитов и рассчитанные по формуле (9) средние времена образования поры в мембране (сплошная линия) в зависимости от обратной величины натяжения мембраны x .

При температуре $t \approx 20^\circ\text{C}$ $kT \approx 4 \cdot 10^{-21}$ нм. Таким образом, $\pi\gamma^2/kT \sim 78,5 \cdot 10^{-3}$ нм⁻¹. Из условия наилучшего согласия между экспериментальными данными [5] и формулой (7) находим

$$D(0) \sim 10^{-18} \text{ м}^2 \text{ с}^{-1}. \quad (8)$$

Таким образом, имеем:

$$(kT)^{3/2}/\pi\gamma D(0) \sim 0,25 \cdot 10^{-3/2} (\text{н/м})^{1/2} \text{ с}$$

и для среднего времени образования поры в эритроците получаем

$$\tau = 0,25 \cdot 10^{-3/2} x^{1/2} \exp[0,785 \cdot 10^{-3}x], \quad (9)$$

де $x \equiv \frac{1}{\sigma} 10^5 \text{ н/м}$.

Экспериментальные данные, представленные на рис. 2, получены Рэндом [5] методом вытягивания одиночных эритроцитов в пипетку с калиброванным диаметром при фиксированном перепаде давления. Исходя из геометрии деформированного таким образом эритроцита и фиксированного перепада давления, легко рассчитывалось изотропное натяжение мембраны, при котором визуально наблюдался выход гемоглобина из эритроцита. Подчеркнем, что как в экспериментах Рэнда, так и при контакте с гипотоническим раствором, определяющий вклад в энергию деформации вносит изотропное натяжение мембраны эритроцита, в связи с чем сопоставление полученных им экспериментальных данных с зависимостями, рассчитанными нами (в предположении изотропного натяжения), правомерно.

Удовлетворительное согласие между экспериментальными и расчетными данными свидетельствует в пользу выдвинутого в работе [2] представления о том, что механизм осмотического лизиса липидных везикул или клеток связан с флуктуационным образованием макроскопической поры в мембране, подвергнутой изотропному натяжению при контакте с гипотонической средой. Однако выражение (7) для среднего времени образования поры в мембране отличается от принятого в работе [2]. Проведенные расчеты приводят к оценке величины коэффициента диффузии $D(0)$ (8), значение которого в литературе нам не встречалось.

1. Гилмор Р. Прикладная теория катастроф.— М.: Мир, 1984.— 350 с.
2. Козлов М. М., Маркин В. С. Теория осмотического лизиса липидных везикул // Биологические мембраны.— 1984.— 1, № 1.— С. 74—89.
3. Лайтфут Э. Явления переноса в живых системах.— М.: Мир, 1977.— 520 с.
4. Ланда П. С. Автоколебания в системах с конечным числом степеней свободы. М.: Наука, 1980.— 359 с.
5. Rand R. P. Mechanical properties of the red cell membrane. I. Viscosoelastic breakdown of the membrane // Biophys. J.— 1964.— 4.— P. 303—316.
6. Taupin C., Dvolaizky M., Sauterey C. Osmotic pressure induced pores in phospholipid vesicles // Biochemistry.— 1975.— 14.— P. 4771—4775.

Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 12.02.85.

*Л. З. Верховская, Н. С. Сигал, В. Ф. Карташов, В. М. Гучок,
В. К. Мазалов*

ВОЗДЕЙСТВИЕ ОКСИЭТИЛИРОВАННЫХ ПОЛИОЛОВ НА ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Одним из эффективных путей создания криопротекторов является оксиэтилирование многоатомных спиртов [1]. Перспективность применения оксиэтилированных полиолов для низкотемпературного консервирования различных биологических объектов в качестве криопротекторов, не требующих отмывания, выдвигает задачу изучения их влияния на организм животных и человека. С этой целью в Институте проблем криобиологии и криомедицины АН УССР проведено комплексное исследование наиболее перспективных криозащитных веществ — оксиэтильных производных этиленгликоля (ПЭО—400 и ПЭО—1500), глицерина (ОЭГ—312 и ОЭГ—1412) и пентаэритрита (ОЭП—488). В острых экспериментах были определены среднесмертельные дозы (ЛД—50) криопротекторов [1]. Проводились также патоморфологические и гистологические исследования действия некоторых криопротекторов на организм животных [2].

Настоящее сообщение посвящено изучению токсико-фармакологических свойств оксиэтилированных глицеринов со средней молекулярной массой 312 и 1412, обладающих криозащитной активностью в отношении клеток крови.

Эксперименты проводились на половозрелых кроликах породы шиншилла, белых крысах, мышах и кошках обоего пола, содержащихся на обычной диете вивария. Исследовалось влияние однократного или повторных, внутривенных или внутрибрюшинных введений 10, 20, 30 %-ных растворов ОЭГ—1412 в дозах 1/2, 1/5, 1/10 и 1/20 ЛД—50 и 5, 10, 15, 20, 40, 60 %-ных растворов ОЭГ—312 в дозах 1/5, 1/10, 1/20 и 1/40 ЛД—50. Контрольным животным вводили соответствующие объемы 0,9 %-ного раствора хлорида натрия, при изучении функции почек — соответствующие объемы дистиллированной воды. Группы контрольных и опытных животных состояли из 5—7 особей.

Для выяснения влияния веществ на организм изучали общее состояние животных, их поведение, отношение к корму, динамику массы тела, показатели периферической крови (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, лейкограмма), тромбоэластограммы (ТЭГ). Функции печени исследовали по показателям бромсульфалеиновой (БСФ) пробы [5], общего белка (рефрактометрия) и соотношению белковых фракций сыворотки крови (электрофорез на бумаге), активности аланин- и аспарагинтрансаминаз (АЛТ и АСТ) [7] сыворотки крови. Состояние функции почек оценивали по величине суточного диуреза в расчете на 100 г массы тела животного, удельного веса мочи (весовым методом), содержанию в ней хлоридов, азоту мочевины крови и мочи, клиренсу мочевины [3], содержанию катионов Na^+ и K^+ в сыворотке крови и выведению их с мочой (пламенная фотометрия), белка [6] и сахара [3] мочи. Проводили также микроскопическое исследование осадка мочи. Электрокардиографию (ЭКГ) и определение массовых коэффициентов внутренних органов проводили общепринятыми методами. В острых опытах на кошках под уретановым (1 г/кг внутрибрюшинно) наркозом регистрировали артериальное давление с помощью кимографа и ртутного манометра. Одновременно записывали параметры дыхания через трахеальную канюлю с помощью капсулы Маррея. Кумулятивные свойства криопротекторов определяли по методике Лим и соавторов [4]; вычисляли коэффициенты видовой чувствительности.

При однократном внутривенном введении 30 %-ного раствора ОЭГ—1412 кроликам в дозе 1/2 ЛД—50 (8,0 г/кг) было установлено нару-

шение экскреторной функции печени по показателям БСФ-пробы. При этом содержание общего белка и соотношение белковых фракций в сыворотке крови существенно не менялось. При однократном внутрибрюшинном введении 20 %-ного раствора ОЭГ—1412 белым крысам в той же дозе (1/2 ЛД—50 — 3,95 г/кг) выявлены некоторые изменения функциональных показателей почек. Так, удельный вес мочи достоверно увеличивался на 10 %, а азот мочевины крови уменьшался на 56 %. Показатели содержания хлоридов, белка и азота мочевины в моче у подопытных животных достоверно не отличались от контрольных. Величина суточного диуреза увеличивалась как у опытных, так и контрольных животных, что, очевидно, связано с введением больших объемов жидкости. Относительная масса почек животных достоверно увеличивалась на 16 и 14 % для левой и правой почки соответственно. Выявлены умеренные колебания показателей ЭКГ, периферической крови, ее свертываемости.

Общее состояние, внешний вид, поведение, отношение к корму и динамика массы тела животных, подвергавшихся воздействию ОЭГ—1412, не отличались от таковых у животных контрольных групп.

Трехкратное интермиттирующее парентеральное введение 10 %-ного раствора ОЭГ—1412 в дозе 1/5 ЛД—50 также приводило к некоторым патологическим сдвигам. Так, внутривенное введение его кроликам в дозе 3,2 г/кг (1/5 ЛД—50) вызывало достоверное снижение процента эозинофилов в крови. При внутрибрюшинном введении ОЭГ—1412 в той же концентрации и дозе (1,58 г/кг — 1/5 ЛД—50) белым крысам выявлено достоверное увеличение суточного диуреза (на 62,4 %), относительной массы надпочечников (на 28,3—31,7 %), почек (на 16,7—19,4 %), селезенки (на 56,6 %) по сравнению с соответствующими показателями контрольных животных. Артериальное давление после внутривенного введения ОЭГ—1412 кошкам достоверно не изменялось. Существенных изменений амплитуды и частоты дыхания выявлено не было. Таким образом, ОЭГ—1412 в данной дозе оказывал воздействие, при котором в организме возникали изменения, выходящие за пределы физиологических приспособительных реакций. Так, трехкратное внутривенное введение 1/10 ЛД—50 (1,6 г/кг) ОЭГ—1412 кроликам вызывало определенное снижение процента эозинофилов к концу наблюдения. В то же время по общему состоянию, поведению, динамике массы тела опытные животные не отличались от контрольных. Введение исследуемой дозы и концентрации криопротектора не изменяло клеточного состава периферической крови и содержания гемоглобина, общего белка и соотношения белковых фракций сыворотки крови, а также альбумин-глобулинового коэффициента, показателей БСФ-пробы, активности ферментов сыворотки крови и ЭКГ. Не выявлено достоверных различий относительной массы почек, надпочечников, печени, селезенки, сердца и легких опытных и контрольных животных.

При внутрибрюшинном введении белым крысам ОЭГ—1412 в той же концентрации и дозе (10 %; 1/10 ЛД—50 — 0,79 г/кг) было установлено достоверное увеличение (на 36,5 %) относительной массы селезенки. Исследованные показатели функционального состояния почек, морфо-функциональные показатели периферической крови не претерпевали изменений. Коэффициент кумуляции для ОЭГ—1412 был равен 17,9, что свидетельствует об отсутствии кумулятивных свойств у данного криопротектора. Коэффициент видовой чувствительности в ряду мыши — крысы — кролики составил 1,01—2,22, что свидетельствует об отсутствии разл. ч й в видовой чувствительности [4].

Для дальнейшего определения безвредных доз и концентраций проводились субхронические эксперименты в течение 30 дней с введением криопротектора 1 раз в 3 дня. Все изучаемые показатели определялись до введения, через 7, 14 дней и в конце опыта — для ОЭГ—1412 и через 10, 20 дней — для ОЭГ-312.

При внутривенном введении кроликам 10 %-ного раствора ОЭГ—1412 в дозе 1/10 ЛД—50 (1,6 г/кг) и 20 %-ного раствора ОЭГ—312 в той же дозе

(1/10 ЛД—50 — 1,3 г/кг) не выявлено достоверных различий показателей БСФ - пробы, активности АЛТ и АСТ сыворотки крови, содержания общего белка и белковых фракций, ТЭГ опытных и контрольных животных. Исключением явилось статистически значимое уменьшение процента моноцитов и эозинофилов на 10-й день введения 20 % -ного раствора ОЭГ—312. В конце опыта процентное содержание моноцитов приблизилось к показателям контрольной группы, а содержание эозинофилов продолжало снижаться. При сравнении относительной массы внутренних органов кроликов не выявлено статистически значимых различий между опытной и контрольной группами. Исключение составило уменьшение массового коэффициента левого надпочечника опытных животных на 35,6 %.

Изучение 1/20 ЛД—50 ОЭГ—1412 и ОЭГ—312 показало, что при внутривенном введении данных криопротекторов в 10 и 20 % -ной концентрациях кроликам показатели БСФ-пробы, общий белок и соотношение белковых фракций сыворотки крови опытной группы не отличались от таковых у контрольных животных.

При изучении показателей периферической крови кроликов было установлено достоверное увеличение количества лейкоцитов (на 36 %) в конце эксперимента при введении криопротектора в 20 % -ной концентрации. Электрокардиографическое исследование влияния криопротекторов на сердечно-сосудистую систему не выявило значимых различий между показателями ЭКГ опытных и контрольных групп кроликов. Однако через 7 дней после введения 20 % -ного раствора ОЭГ—1412 отмечалось уменьшение (на 14 %) по сравнению с контролем электрической систолы желудочков ($Q - T$). В острых опытах на кошках было продолжено и дополнено изучение влияния ОЭГ—312 на сердечно-сосудистую систему и дыхание. ОЭГ—312 вводили внутривенно в дозах 1/40, 1/20, 1/10 и 1/5 ЛД—50 в различных (5, 10, 15, 20, 40 и 60 %) концентрациях. Результаты наблюдений показали, что ОЭГ—312 при внутривенном введении в испытанных дозах (0,325—2,6 г/кг), как правило, вызывал некоторое повышение артериального давления. Лишь в отдельных наблюдениях гипертензивная реакция не отмечалась. Величина гипертензивного эффекта обычно колебалась в диапазоне 6,5—29,3 % по сравнению с исходным уровнем кровяного давления, продолжительность составляла от 5 до 45 минут. Каких-либо изменений со стороны изученных параметров дыхания в этой серии опытов выявлено не было. Показатели свертываемости крови также значимо не изменялись под воздействием исследуемых криопротекторов.

В отдельном подостром эксперименте, проведенном на белых крысах-самках, было изучено влияние ОЭГ—312 в дозе 1/20 ЛД—50 (0,86 г/кг) на функциональное состояние почек. Криопротектор вводился внутрибрюшинно в 5 и 10 % -ной концентрациях через 1—2 дня в течение 35 дней. Всего за время опыта каждому животному было введено 13,94 г/кг массы тела ОЭГ—312. Результаты исследования показали, что у крыс, подвергавшихся воздействию криопротектора, показатели удельного веса мочи колебались в диапазоне от $1,015 \pm 0,001$ до $1,048 \pm 0,011$; количество хлоридов — от $1,115 \pm 0,154$ до $2,867 \pm 0,212$ мг/мл; азота мочевины — от $11,4 \pm 1,77$ до $20,5 \pm 1,3$ мг/мл; содержание белка в моче животных — от $22,8 \pm 2,38$ до $37,78 \pm 7,04$ мг %. Данные микроскопии осадка мочи животных опытных и контрольных групп существенно не отличались между собой. Общее состояние, поведение, внешний вид, отношение к корму животных, подвергавшихся воздействию ОЭГ—312, не отличались от состояния крыс контрольной группы.

При изучении относительной массы внутренних органов не выявлено существенных различий между подопытной и контрольной группами крыс. Исключение составило достоверное уменьшение (на 13 %) массового коэффициента печени. Эти данные согласуются с ранее полученными нами результатами по изучению влияния малых доз ОЭГ—1412 на функцию почек, где было установлено, что многократное внутрибрюшинное введение

ОЭГ—1412 в дозе 1/20 ЛД—50 (0,4 г/кг) в 10 %-ной концентрации не нарушает функции почек, но в 20 %-ной концентрации может вызывать кратковременное нарушение канальцевой реабсорбции натрия. Таким образом, введение ОЭГ—1412 в дозе 1/20 ЛД—50 вызывало кратковременные нарушения, протекавшие по типу первичной декомпенсации [4].

В заключение можно сделать следующие выводы:

— многократное парентеральное введение ОЭГ—312 и 1412 в дозах 1/10 и 1/20 ЛД—50 может вызывать кратковременные изменения по типу первичной декомпенсации, а увеличение концентрации усиливает вызванные изменения, сохраняя их преходящий характер;

— порогом вредного действия ОЭГ—1412 в условиях парентерального введения лабораторным животным следует считать дозу 1/5 ЛД—50;

— ОЭГ—312 и 1412 не обладают кумулятивными свойствами и видовой чувствительностью.

1. *Актуальные проблемы криобиологии* / Под общ. ред. Н. С. Пушкаря и А. М. Белоуса.— Киев : Наук. думка, 1981.— 608 с.
2. *Козлова В. Ф., Гучок М. М., Щетинский И. М. и др.* Итоги морфологического исследования действия некоторых криопротекторов на организм животных // *Механизмы криоповреждения и криозащиты биологических структур*.— Киев : Наук. думка, 1977.— С. 36—37.
3. *Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия)* / Под ред. И. В. Саноцкого.— М. : Медицина, 1980.— 202 с.
4. *Саноцкий И. В., Уланова И. П.* Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений.— М. : Медицина, 1975.— 326 с.
5. *Тугаринова В. И., Миклашевский В. Е., Скобцева Г. Г.* Модификация микрометода бромсульфаленовой пробы на экскреторную функцию печени // *Лаб. дело*. — 1967.— № 4.— С. 218—220.
6. *Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R.* Protein measurement with the folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.*— 1951.— 193, N 2.— P. 265—275.
7. *Reitman S., Frankel S.* A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases // *Am. J. Clin. Path.* — 1957.— 28, N 1.— P. 56—63.

Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 06.12.83

УДК 591.543.42

**А. И. Ануфриев, Т. Н. Соломонова, И. С. Васильев, Л. С. Данилова,
А. К. Ахременко**

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ УГЛЕВОДНОГО МЕТАБОЛИЗМА ДЛИННОХВОСТОГО СУСЛИКА В ПЕРИОД ЗИМНЕЙ СПЯЧКИ

Якутский суслик (*Citellus undulatus jacutensis* Brandt, 1843) — самая северная форма вида. В природных условиях спячка у этого подвида имеет свои особенности (большая длительность, залегание в спячку и выход из нее при отрицательных температурах), что находит отражение в эколого-физиологических характеристиках. Если экология вида изучена относительно хорошо, то физиологические и биохимические изменения в организме исследованы крайне недостаточно. Целью настоящей работы явилось изучение ряда физиологических и биохимических показателей метаболизма якутского длиннохвостого суслика в период спячки: динамики температуры и массы тела животных, содержания глюкозы в крови, гликогена в печени и мышцах, витамина С в тканях печени, селезенки, почек, надпочечников, сердца, а также активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в тканях мышц, сердца, мозга, почек, печени.

Суслики содержались в условиях вивария в индивидуальных клетках, получая неограниченное количество корма. Во второй половине октября животные были переведены в подвальное помещение с температурой 3 °С

и продолжительностью периода освещенности 8 часов. Содержание глюкозы в крови определяли 0 — толуидиновым методом, гликогена в тканях — антроновым методом, витамина С в тканях — модифицированным методом С. Фармера и А. Абта [4], активность ЛДГ — калориметрическим методом.

Массовое залегание в спячку началось в условиях вивария в первой половине декабря. Этот процесс растянут во времени и характеризуется многократно повторяющимися понижениями температуры тела сусликов. Продолжительность баутов колеблется в пределах нескольких дней. В это время происходит наибольшая потеря массы тела животных (табл. 1). С понижением температуры тела (до 2,6 °С) снижаются и темпы потери массы тела. Потеря массы тела сусликов за весь период составила в среднем 195 г или 28 %.

Таблица 1. Динамика физиолого-биохимических показателей якутского суслика в период спячки

Изучаемый период	Температура, °С		Потеря массы за сутки,		Бурый жир, г	Гликоген, мг/г		Глюкоза крови, мг%
	среды	тела	г	%		печень	мышцы	
Контроль (октябрь)	3,0	37,2 ± 0,2	0,54	0,08	1,3 ± 0,1	—	—	68,6 ± 3,1
Начало спячки (декабрь)	2,0	13,5 ± 0,4	3,46	0,52	3,3 ± 0,5	6,3 ± 1,0	2,8 ± 0,7	53,3 ± 1,6
Глубокая спячка (январь)	2,0	3,8 ± 0,4	0,82	0,14	2,5 ± 0,2	2,7 ± 0,6	1,1 ± 0,2	23,01 ± 1,4
Март	0,5	2,6 ± 0,3	0,69	0,13	2,5 ± 0,3	—	—	34,7 ± 1,4
Пробуждение (апрель)	0,0	31,8 ± 0,4			1,9 ± 0,2	6,2 ± 0,8	2,7 ± 0,8	92,3 ± 12,7

Большую роль в ходе спячки и пробуждения от нее играет бурая жировая ткань. К началу спячки при понижении температуры среды количество бурого жира увеличивается и поддерживается во время спячки на постоянном уровне. При пробуждении от спячки бурая жировая ткань является источником повышенного теплообразования для поддержания метаболизма в условиях низких температур. В этот период происходит наибольшая его трата.

В период спячки отмечена выраженная гипогликемия, которая наблюдается практически у всех зимоспящих видов [2]. К окончанию спячки концентрация глюкозы в крови достоверно возрастает. Это свидетельствует о том, что в организме может поддерживаться не только уровень глюко-неогенеза [5], но может происходить и компенсация количества глюкозы при выходе суслика из спячки. Подтверждает это и динамика изменения уровня гликогена в тканях печени и скелетных мышц. Существует предположение, что регулирующую роль в процессе глюконеогенеза могут играть ферменты, в числе их и лактатдегидрогеназа. У якутских сусликов в спячке активность ЛДГ в сердце и почках выше, чем в другие сезоны года: в сердце активность повышается в 2 раза, в почках в 5 раз по сравнению с осенним уровнем, что указывает на важную роль этих органов в спячке (табл. 2). Летом в сердце и почках якутских сусликов активность ЛДГ

Таблица 2. Сезонная динамика активности лактатдегидрогеназы в тканях якутского суслика (мкмоль пирувата/мин. г сырого веса ткани)

Ткань	Зима (спячка)	Весна	Лето	Осень
Мышца	12,73 ± 0,58	10,12 ± 0,60	21,21 ± 1,78	8,65 ± 0,40
Сердце	25,24 ± 0,82	19,49 ± 1,44	19,37 ± 1,11	13,25 ± 1,50
Мозг	6,18 ± 0,21	5,40 ± 0,30	8,99 ± 1,03	4,09 ± 0,11
Почки	20,14 ± 0,87	16,66 ± 2,29	15,53 ± 1,79	3,83 ± 0,14
Печень	12,82 ± 0,79	6,13 ± 0,57	16,79 ± 1,47	8,75 ± 0,31

снижается и достигает своего минимального значения осенью. В мышцах, мозгу максимальная активность ЛДГ наблюдается летом, осенью снижается до своего минимального уровня и повышается зимой, но не достигает летнего уровня. В печени максимальная активность ЛДГ отмечается летом, осенью — снижается, в спячке вновь повышается и достигает минимума весной.

Одним из показателей физиологического состояния органов является содержание в них аскорбиновой кислоты (рис. 1). В начале периода спячки содержание аскорбиновой кислоты в сердце нарастает и поддерживается на высоком уровне до выхода из спячки, после чего снижается до минимума. Снижение содержания витамина С после выхода из спячки характерно и для надпочечников, что связано с резким повышением их активности. В селезенке при выходе из спячки происходит интенсификация эритропоэза, при этом содержание аскорбата возрастает. Сравнительно равномерное снижение количества аскорбата в ходе спячки наблюдается в тканях почек, что, по-видимому, связано с морфофункциональными перестройками, приводящими к значительному понижению фильтрационной деятельности [1]. Печень характеризуется наиболее высоким абсолютным содержанием витамина С. В период спячки у якутского суслика абсолютное количество аскорбата в исследуемых тканях существенно не меняется, что подтверждает положение, выдвинутое М. И. Саулич [3], о возможности синтеза витаминов во время спячки. Динамика относительного содержания аскорбата во всех органах соответствует ходу изменения его абсолютного количества. Только в почках после выхода из спячки это соответствие нарушается. Оно может быть обусловлено резким (двукратным) увеличением массы органа после выхода животных из спячки.

Таким образом, приведенные материалы демонстрируют, насколько экономно протекают физиологические и биохимические процессы в тканях якутского суслика во время спячки, что, в свою очередь, является решающим фактором успешной адаптации вида к экстремальным условиям.

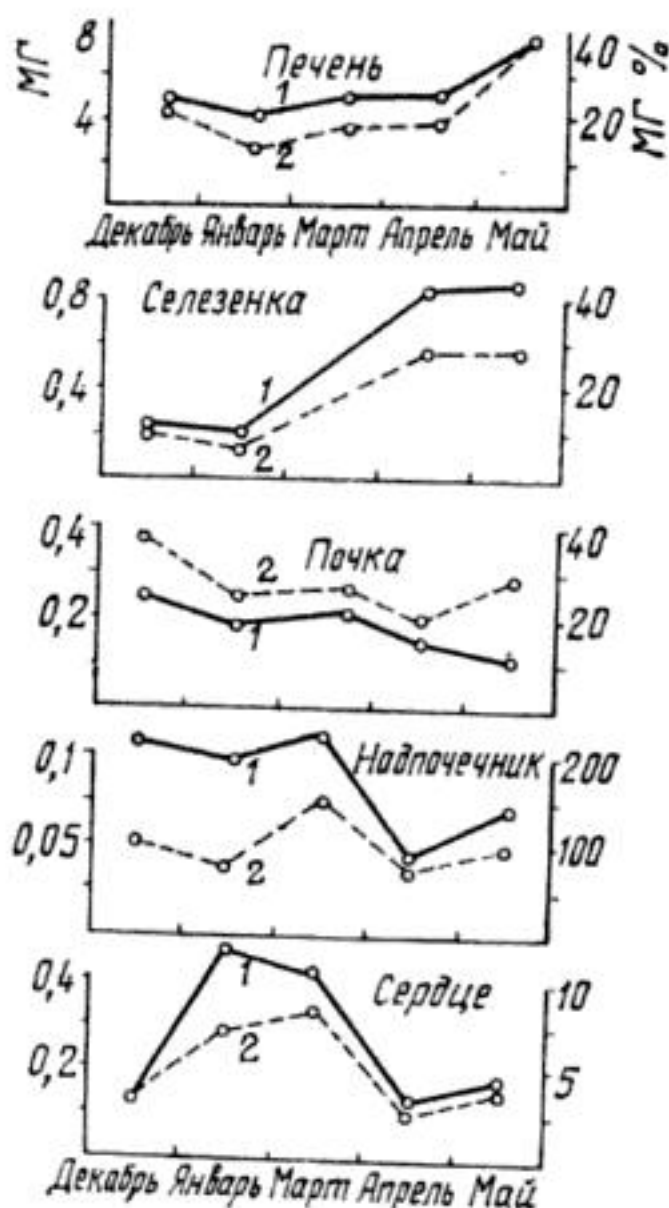


Рис. 1. Содержание витамина С в органах якутского суслика во время зимней спячки: 1 — относительное количество, мг%, 2 — абсолютное количество, мг.

1. Иванова Л. Н. Водно-солевой гомеостазис и функция почек // Экологическая физиология животных. Часть I. — Л.: Наука, 1979. — С. 214—222.
2. Калабухов Н. И. Спячка животных. — Харьков: Изд-во ХГУ, 1956. — 267 с.
3. Саулич М. И. Содержание некоторых витаминов в организме крапчатых сусликов во время зимней спячки // Зоол. журн. — 1968. — 47, № 11. — С. 1707—1712.
4. Соломонов Н. Г., Захарова Р. К. Упрощенная методика определения витамина С в органах животных // Зоол. журн. — 1969. — 47, № 3. — С. 1404—1406.
5. Hannon J. P., Vaughan D. H. Initial stages of intermediary glucose catabolism in the hibernator and non-hibernator // Amer. J. Physiol. — 1961. — 207, N 2. — P. 217—222

Институт биологии ЯФ СО АН СССР,
г. Якутск

Поступила 19.09.83

Г. Ф. Жегунов

СТРУКТУРА МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОНТАКТОВ В МИОКАРДЕ ГЕТЕРОТЕРМНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Сердце зимоспящих животных способно к сокращению в условиях глубокой гипотермии. При этом отмечаются существенные функциональные сдвиги в работе миокарда, а также изменения в метаболизме отдельных кардиомиоцитов. Большую роль в функционировании миокарда играют специализированные контакты клеток [1, 3], которые обеспечивают большую скорость распространения возбуждения по миокарду, синхронность сокращения клеток, механическую связь клеток друг с другом и обмен метаболитами [1]. Изучению структурной основы изменения свойств клеток сердца при глубокой гипотермии и зимней спячке посвящено ограниченное число экспериментальных работ [2, 4, 5]. В них отмечаются некоторые изменения ультраструктуры клеток миокарда [2], структуры вставочных

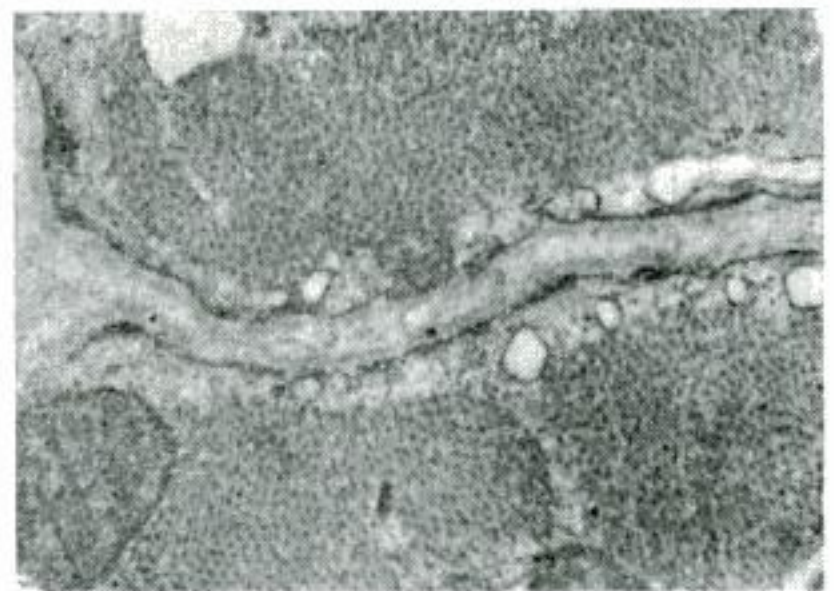
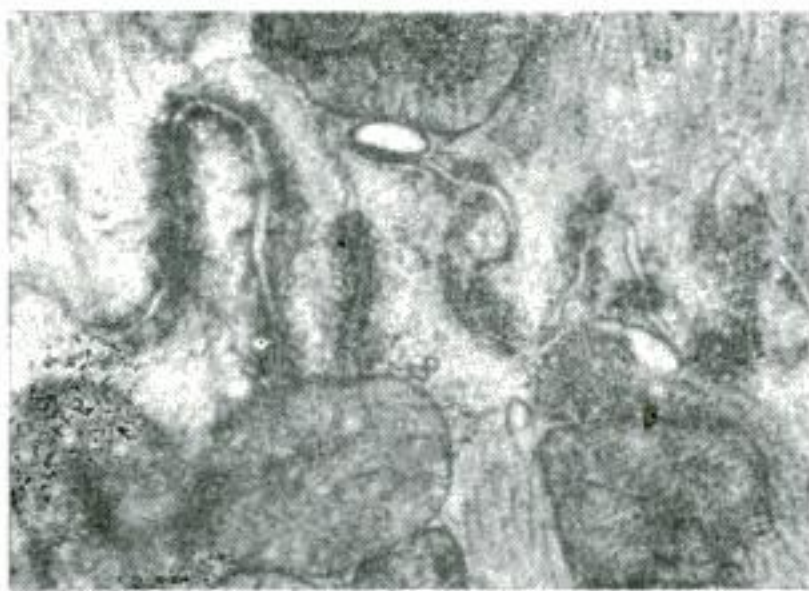


Рис. 1. Структура вставочного диска миокарда зимоспящего суслика. Контрастирование уранилацетатом и цитратом свинца. Увеличение 36000 х.

Рис. 2. Контакт между боковыми поверхностями кардиомиоцитов зимоспящих животных. Увеличение 45000 х.

дисков [5], утолщение базального слоя между клетками [4]. Указанные работы не представляют достаточно полной картины адаптационных структурных изменений кардиомиоцитов и клеточных контактов миокарда в процессе зимней спячки. В связи с этим в данной работе исследована ультраструктура межклеточных контактов в миокарде активных и гибернирующих сусликов.

Экспериментальная работа проводилась зимой (декабрь — февраль) на активных (температура тела 35°C) и гибернирующих сусликах (температура тела $2\text{--}4^{\circ}\text{C}$). Было использовано по пять животных в каждой группе. После декапитации животных из левого желудочка брались кусочки ткани и фиксировались в течение двух часов в 1 %-ном растворе глутарового альдегида, приготовленного на фосфатном буфере ($\text{pH} = 7,25$). Образцы дофиксировались в течение 1 часа 1 %-ным раствором OsO_4 ($\text{pH} = 7,25$). Кусочки ткани обезвоживались в ряду растворов этанола возрастающей крепости и заключались в эпоксидную смолу. Ультратонкие срезы контрастировались в растворах уранилацетата, цитрата свинца и просматривались под электронным микроскопом ЭМ—100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ.

В процессе зимней спячки гетеротермные животные строго координируют работу кардиомиоцитов, несмотря на то что при низкой температуре существенно изменяются метаболические и транспортные процессы [5]. Такая координация достигается, по-видимому, за счет предварительной модификации ультраструктуры мембран, а также межклеточных контактов.

При изучении ультраструктуры кардиомиоцитов зимоспящих отмечено увеличение площади контакта клеток в области вставочных дисков за счет большой складчатости плазматических мембран (рис. 1). Соединения между миоцитами таких животных характеризуются большим количеством специализированных контактов на единицу площади сарколеммы. При этом толщина базального слоя между соседними клетками сердца гибернирующих животных увеличена примерно на 25 %, толщина контакта области десмосом также увеличена на 15 %. Следует отметить, что вставочные диски клеток миокарда активных животных имеют расширения межклеточного пространства, заполненного электроннопрозрачным содержимым. У животных в состоянии гибернации обнаруживаются более значительные расширения базального слоя. Эти цистерны заполнены матриксом средней электронной плотности, гранулами и везикулами.

Контакты между боковыми поверхностями клеток у активных животных имеют более простой вид и не содержат специализированных соединений — соседние клетки разъединены лишь базальной пластинкой и межклеточным цементирующим веществом. У животных в состоянии гибернации этот промежуток между клетками несколько увеличен. При этом в примембранном пространстве наблюдаются скопления везикул (рис. 2).

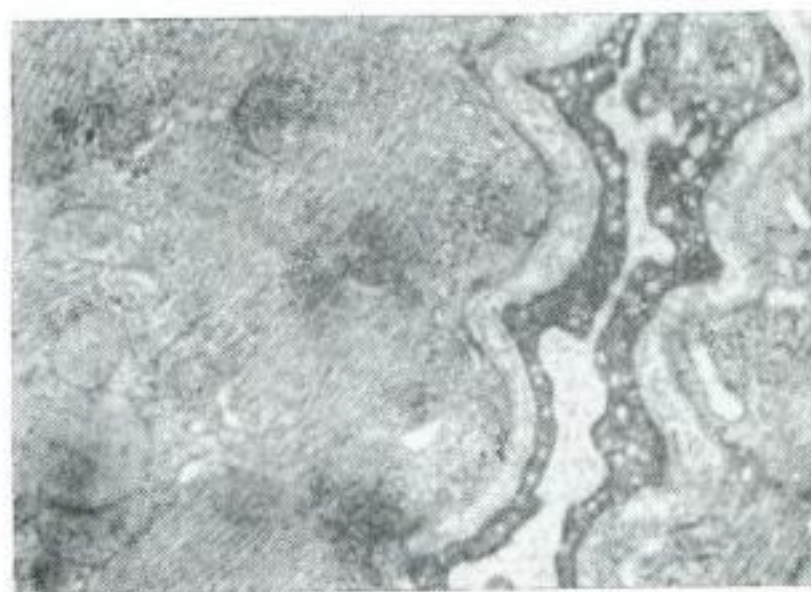
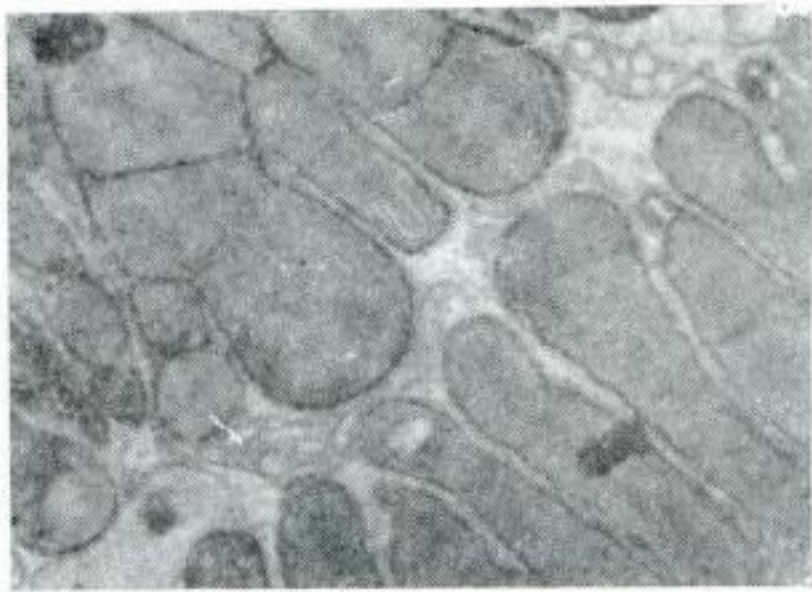


Рис. 3. Выросты боковых поверхностей кардиомиоцитов зимоспящего суслика. Увеличение 15000 х.

Рис. 4. Область контакта кардиомиоцита с кровеносным сосудом зимоспящего суслика. Увеличение 23000 х.

Довольно часто поверхности соседних клеток образуют выросты. Эти контакты имеют сложную организацию: каждый такой вырост заполнен митохондриями, везикулами, гранулами гликогена, липидными включениями, что дает основание считать эти области кардиомиоцитов важными в обеспечении функции миокарда у зимоспящих животных (рис. 3).

Кроме соседних клеток, практически каждый кардиомиоцит контактирует с кровеносным сосудом. Клетки сердца зимоспящих животных, контактирующие с капиллярами, имеют сильно извитую границу, за счет чего значительно увеличивается площадь контакта с содержимым кровеносных сосудов (рис. 4). Примембранные зоны клеток при этом содержат обычно большое количество митохондрий, гранул гликогена, липидных капель. Наблюдается также много везикул различных размеров и электронной плотности, которые, скорее всего, участвуют в обмене и транспорте веществ через мембрану.

Таким образом, структура межклеточных контактов в миокарде зимоспящих отличается от таковой у животных в активном состоянии. В первую очередь необходимо отметить, что для сердца животных в состоянии зимней спячки характерно увеличение площади контакта с соседними миоцитами и кровеносными сосудами. Особенностью гибернирующих животных является также наличие выростов клеточной поверхности и увеличение толщины базального слоя. О специфике обмена веществ в миокарде зимоспящих свидетельствует также наличие в примембранном пространстве

кардиомиоцитов большого количества везикул, митохондрий, липидных включений, гранул гликогена, что свидетельствует об энергетической насыщенности зон контакта между соседними клетками и капиллярами.

Отмеченные перестройки структуры межклеточных контактов носят, несомненно, приспособительный характер, что в конечном итоге способствует функционированию кардиомиоцитов при низких температурах.

1. *Де Мелло У. К.* Межклеточные взаимодействия в сердечной мышце // Межклеточные взаимодействия.— М. : Медицина, 1980.— С. 95—131.
2. *Непомнящих Л. М., Колесникова Л. В., Непомнящих Г. И., Туманов В. П.* Стереологический анализ ультраструктурной организации кардиомиоцитов у краснощеких сусликов в различные сезоны года // Бюлл. эксп. биол. и мед.— 1984.— 47, № 7.— С. 99—104.
3. *Румянцев П. П.* Кардиомиоциты.— Л. : Наука, 1982.— 288 с.
4. *Limby M. L., Sherman M., Romano C. C.* Ultrastructural modifications of the intercalated disc during hypothermia in the rat and ground squirrel // Cryobiology.— 1968.— 4, N 6.— P. 317—328.
5. *Rosenquist T. H.* Ultrastructural changes in the plasma membrane and sarcoplasmic reticulum of myocardial cells during hibernation // Cryobiology.— 1970.— 7, N 1.— P. 14—18.

Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 26.02.85

УДК 612.822.1:612.57

Ким Ен Рюл, Э.З. Эмирбеков

СОДЕРЖАНИЕ ГОМОКАРНОЗИНА В МОЗГЕ НЕЗИМОСПЯЩИХ И ЗИМОСПЯЩИХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ

Выявление механизмов адаптации гомойотермов к низкой температуре тела и прогнозирование возможных осложнений является важной задачей. При этом на первое место выступает изучение специфических и неспецифических реакций мозга на охлаждение организма, среди которых особо выделяется выяснение роли регуляторных процессов. В последние годы открыты специфические для мозга низкомолекулярные пептиды, выполняющие полифункциональную, регуляторную роль [1]. Одним из таких веществ является гомокарнозин, состоящий из гамма-аминомасляной кислоты и гистидина. Он является тормозным нейромедиатором и принимает участие в регуляции деятельности центральной нервной системы (ЦНС) [5, 7].

В данной работе изучалось количественное распределение указанного нейромедиатора в различных отделах мозга зимоспящих и незимоспящих животных при гипотермии. Опыты проводили на лабораторных белых крысах и сусликах малых (*Citellus Pygmaeus Pallas*), отловленных в низменном Дагестане. Крыс и сусликов одинаковой упитанности и массы (150—200 г) охлаждали в воде, температура которой составляла 4—5 °С. Температуру тела снижали с одинаковой скоростью: ректальная температура на глубине 3—4 см доводилась до 20 °С за 50—65 мин. В отдельных сериях опытов состояние гипотермии (20 °С) поддерживали в течение двух часов. В отличие от крыс у сусликов при охлаждении состояние «холодового наркоза» наступает при температуре тела не 20 °С, а при 10 °С. Поэтому мозг сусликов исследовали дополнительно и при температуре 10 °С. В качестве контроля использовали интактных крыс и бодрствующих сусликов. Как контрольных, так и подопытных животных обезглавливали, извлекали мозг и на холоде разделяли на отделы. Количественное содержание гомокарнозина определяли по методу, описанному в работе [2]. Полученные данные были обработаны вариационно-статистическим методом. Для получения необходимой навески тканей в каждом опыте объединяли мозг от 5 животных.

Приведенные в таблице результаты по содержанию гомокарнозина в тканях мозга крыс и сусликов (от $22,4 \pm 0,68$ до $189,0 \pm 1,21$ нмоль на 1 г сырой ткани) соответствуют литературным данным как по видовому содержанию, так и по распределению гомокарнозина в отделах мозга [3, 4, 6]. У контрольных сусликов содержание гомокарнозина в 2—3 раза больше во всех исследуемых отделах мозга по сравнению с мозгом интактных крыс. Как показали наши эксперименты (см. табл.), гипотермия (20°C) приводит к снижению содержания гомокарнозина в исследуемых отделах мозга крыс на 14—21 %. При поддержании состояния гипотермии в течение 2 ч значительно снижается концентрация дипептида в мозге: в больших полушариях на 40 %, в среднем и промежуточном на 47 %, а в мозжечке на 78 %. Как следует из данных, снижение содержания гомокарнозина в отделах мозга крыс при гипотермии происходит в обратной зависимости от регионального распределения количества дипептида в норме. При охлаждении сусликов до температуры 20°C происходит снижение содержания гомокарнозина в мозге почти в одинаковой степени по сравнению с крысами. Так, в больших полушариях мозга, среднем и промежуточном мозге и мозжечке сусликов при гипотермии 20°C содержание гомокарнозина снижается на 20,7 %, 66,6 % и 59,8 % соответственно. Дальнейшее охлаждение сусликов до температуры 10°C , при которой у них наступает состояние «холодового наркоза», не изменяет установленный пониженный уровень дипептида в исследуемых отделах мозга.

Таблица. Содержание гомокарнозина в отделах мозга крыс и сусликов при гипотермии (в нмолях на 1 г сырой ткани; у крыс — для больших полушарий $n = 10$, для других отделов $n = 5$; у сусликов $n = 6$ и $n = 3$ соответственно)

Варианты опытов, вид животного	Отделы мозга		
	большие полушария	средний и промежуточный мозг	мозжечок
Контроль: крысы, суслики	$22,4 \pm 0,68$ $48,0 \pm 0,99$	$70,4 \pm 1,30$ $101,3 \pm 1,98$	$74,4 \pm 1,89$ $189,0 \pm 1,21$
Гипотермия 20°C : крысы суслики	$19,3 \pm 0,50$ $41,6 \pm 0,78$	$55,3 \pm 0,95$ $53,0 \pm 1,67$	$63,0 \pm 1,05$ $113,4 \pm 2,26$
Пролонгированная 2 ч гипотермия 20°C : крысы суслики	$13,4 \pm 0,45$ $31,9 \pm 0,62$	$37,5 \pm 0,33$ $33,7 \pm 1,53$	$16,6 \pm 0,79$ $78,5 \pm 1,97$
Гипотермия 10°C : суслики	$35,2 \pm 0,60$	$49,3 \pm 1,85$	$94,2 \pm 2,08$

Примечание: в таблице во всех случаях различия по сравнению с соответствующим контролем достоверны ($P < 0,05$).

Известно, что одним из ключевых компонентов патологического влияния гипотермии является изменение физико-химической характеристики мембран. Учитывая тот факт, что гистидиновые пептиды оказывают воздействие на сохранение физиологических свойств мембран [5], можно предположить, что обнаруженное нами снижение содержания гомокарнозина в структурах мозга при охлаждении организма является одной из причин патологии при гипотермии. Представленные данные показывают, что в условиях гипотермии гомокарнозин мозга, видимо, не выполняет роль тормозного нейромедиатора.

1. Ашмарин И. П. Перспективы практического применения и некоторых фундаментальных исследований малых регуляторных пептидов // *Вопр. мед. химии.* — 1984. — 30. — Вып. 3. — С. 2—7.
2. Бондаренко Т. И., Маклецова М. Г. Количественное определение гомокарнозина в спинномозговой жидкости и крови // *Лаб. дело.* — 1982. — № 4. — С. 204—206.

3. Кричевская А. А., Лукаш А. И., Шугалей В. С., Бондаренко Т. И. Аминокислоты, их производные и регуляция метаболизма.— Ростов-на-Дону : Изд-во Ростовского госуниверситета, 1983.— 110 с.
4. Маклецова М. Г. Гомокарнозин в мозгу животных разного возраста в норме и при действии гипербарической оксигенации и гипоксии : Автореф. дис. ... канд.биол. наук.— Ереван, 1983.— 28 с.
5. Сытинский И. А. Гамма-аминомасляная кислота в деятельности нервной системы (биохимия, фармакология, клиника).— Л. : Наука, 1972.— 200 с.
6. Ng R. H., Marshall F. D. Regional and subcellular distribution of homocarnosine-carnosine synthetase in the central nervous system of rats // J.Neurochem.— 1978.— 30, N 1,— P. 187—190.
7. Osborne N. N., Wu P. H., Heuhojf V. Free amino acids and related compounds in the dorsal roots ganglia and spinal cord as determined by the microdansylation procedure// Brain Res. — 1974.— N 1.— P. 175—181.

Дагестанский государственный
университет, г. Махачкала

Поступила 15.11.8

УДК 57.043:611.77.085.23.549.963.32

Н. А. Волкова, С. Г. Хвостова, Б. П. Сандомирский

СИНТЕЗ ДНК В ОРГАНИЧЕСКИХ КУЛЬТУРАХ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИИ

Успешное консервирование и долгосрочное хранение кожи могут быть достигнуты на основе использования криозащитных веществ, уменьшающих повреждающее влияние низких температур на структуры ткани [6]. Одним из таких протекторов, успешно применяемых при криоконсервировании кожи, является полиэтиленоксид с молекулярной массой 400 (ПЭО-400) [4]. Однако, как показано при органном культивировании фрагментов кожи, находившихся в контакте с растворами ПЭО-400, это вещество угнетающе влияет на миграцию и способность к распластыванию на субстрате клеточных элементов эксплантата [1]. Целью настоящего сообщения явилось изучение вне организма ДНК-синтезирующей способности клеточных элементов кожи человека, в первую очередь, базальных эпидермоцитов на отдельных этапах низкотемпературного консервирования, поскольку именно этот показатель может характеризовать один из ключевых моментов процесса пролиферации, играющего существенную роль в восстановлении биологической полноценности деконсервированного кожного лоскута.

Материалом исследования послужили 18 кожных лоскутов от 6 трупов, взятых через 4—6 ч с момента смерти, на которых были проведены 3 серии экспериментов в зависимости от условий хранения до эксплантации: 1) при 4 °С в воздушной среде до 24 ч; 2) при 4 °С до 21 ч с последующим погружением в среду консервирования, содержащую 15 %-ный ПЭО-400, на 3 ч; 3) при 4 °С в воздушной среде до 21 ч с последующим погружением в среду консервирования на 3 ч, программное замораживание, хранение 7 сут, отогрев при 40 °С. Конкретные значения параметров охлаждения соответствовали разработанному способу криоконсервирования кожи человека [5]. Эксплантацию и культивирование производили по описанной ранее методике [1]. ³H-тимидин, как специфический предшественник синтеза ДНК, добавляли в питательную среду из расчета 0,1 мкКи/мл на протяжении 14 сут ежедневно, начиная со дня эксплантации. Полную смену питательной среды производили каждые 48 ч. Эксплантаты фиксировали на 1, 2, 3, 5, 7, 10, 12 и 14 сут и подвергали гистологической обработке с целью получения парафиновых срезов. Депарафинированные серийные срезы толщиной 5 мкм покрывали мелкозернистой ядерной эмульсией типа М, которую перед употреблением разводили равным объемом дистиллированной воды. Покрываемые эмульсией препараты высушивали на воздухе в течение 2 ч, экспонировали в темной камере при 4 °С в течение 3 недель, после чего подвергали фотографической обработке, промывали, окрашивали гематоксилином и эозином и заключали в полистирол. Индекс метки (ИМ)

определяли при исследовании 5—7 эксплантатов каждого из 5—6 лоскутов на каждый срок фиксации, просчитывая в каждом эксплантате 300—500 эпидермоцитов [2]. Полученные данные статистически обработаны по критерию Стьюдента-Фишера, различия между контролем и опытом считали достоверными при $P > 0,05$.

Определение индекса метки при ежесуточном насыщении питательной среды ^3H -тимидином показало, что при культивировании эксплантатов кожных лоскутов, составивших первую серию экспериментов, до 10 сут нарастает относительное количество клеток эпидермиса, прошедших S-фазу, и к концу исследования (14 сут) абсолютное большинство базальных клеток ($95,62 \pm 0,81\%$) содержит метку.

Включение ^3H -тимидина в течение первых 5 сут культивирования отмечено в базальных и прилежащих к ним шиповатых эпидермоцитах (рис. 1). При дальнейшем культивировании меченные ^3H -тимидином клетки зарегистрированы в основном в базальном слое.

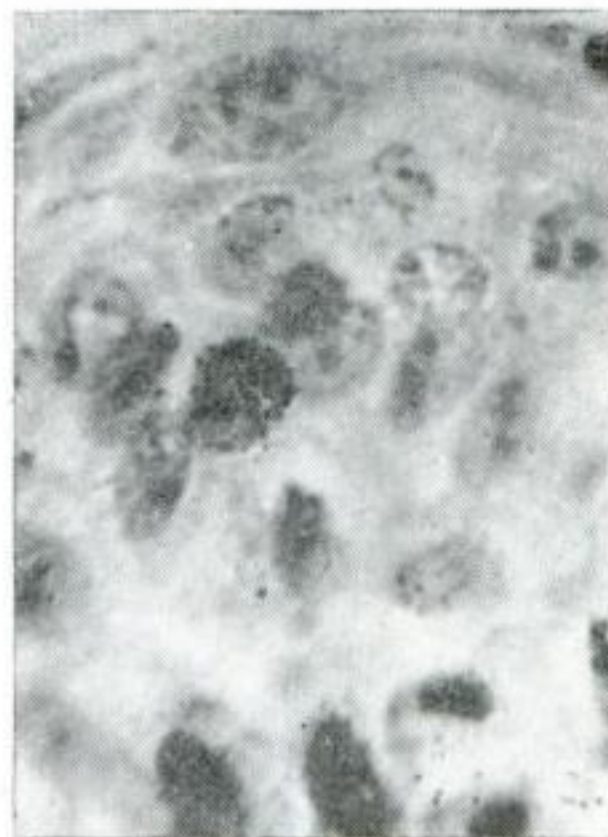


Рис. 1. Трехдневный эксплантат группной кожи:
а—периферическая локализация ДНК-синтезирующих клеток. Гематоксилин и эозин, 100 х.
б—включение метки эпидермоцитами. Гематоксилин и эозин, 900 х.

Распределение меченых клеток в базальном слое эксплантатов было неравномерно. На 1—2 сут культивирования они встречались рассеянно среди базальных эпидермоцитов исходного эпидермиса, а к 3—5 сут их количество заметно возрастало на периферии эксплантата и в эпиболийном слое. С 3-х сут появлялись единичные митозы. В более поздние сроки в процесс пролиферации вовлекалось все большее количество эпидермоцитов: на срезах, полученных из эксплантатов вместе с фильтром, практически все выселившиеся клетки эпиболийного слоя, зоны роста, а также базальные эпидермоциты исходного эпидермиса на 10—14 сут содержали метку. Очевидно, величина пролиферативного пула базальных эпидермоцитов в условиях органного культивирования составляет около 95 %.

В дерме, начиная со 2-х сут культивирования, встречались в незначительном количестве клетки фибробластического ряда, меченные ^3H -тимидином (рис. 2). С 7-х сут их число увеличивалось. Обращало на себя внимание наличие включений в эндотелий капилляров, а также большое количество содержащих метку клеток эпителия волосяных фолликулов, свидетельствовавшее о высокой метаболической активности этих элементов кожного лоскута.

Во второй серии экспериментов, в которой изучалось влияние трехчасовой инкубации кожных лоскутов в среде замораживания, содержащей 15 %-ный раствор ПЭО-400, на процесс включения в синтез ДНК ^3H -тимидина, обнаружено достоверное нарастание числа эпидермоцитов, прошедших S-фазу, только до 5-х сут культивирования, когда индекс метки достигал $48,64 \pm 1,53\%$, после чего прирост количества меченых эпидермоцитов не отмечен вплоть до конца исследования (рис. 3).

Локализация клеток, включивших метку, была сходна с обнаруженной при культивировании исходного материала: на 1—2-е *сут* меченые ядра наблюдались в базальных и прилежащих к ним шиповатых клетках росткового слоя довольно равномерно. С 5-х *сут* нарастало количество включивших метку клеток по краям эксплантата. При дальнейшем культивировании ДНК-синтезирующие клетки регистрировались как в исходном эпидермисе, так и в эпиболийном слое и в зоне роста на фильтре.

Клеточные элементы, локализованные в дерме, также обнаруживали способность к синтезу ДНК в течение двухнедельного срока культивирования. Особенно активно ^3H -тимидин включался в ядра соединительнотканых клеточных элементов, начиная с 7-х *сут*. Включение метки в эпителий дериватов кожи и эндотелий сосудов наблюдалось в течение всего срока культивирования. Таким образом, контакт лоскутов со средой замораживания в течение срока, обеспечивающего жизнеспособность кожи после

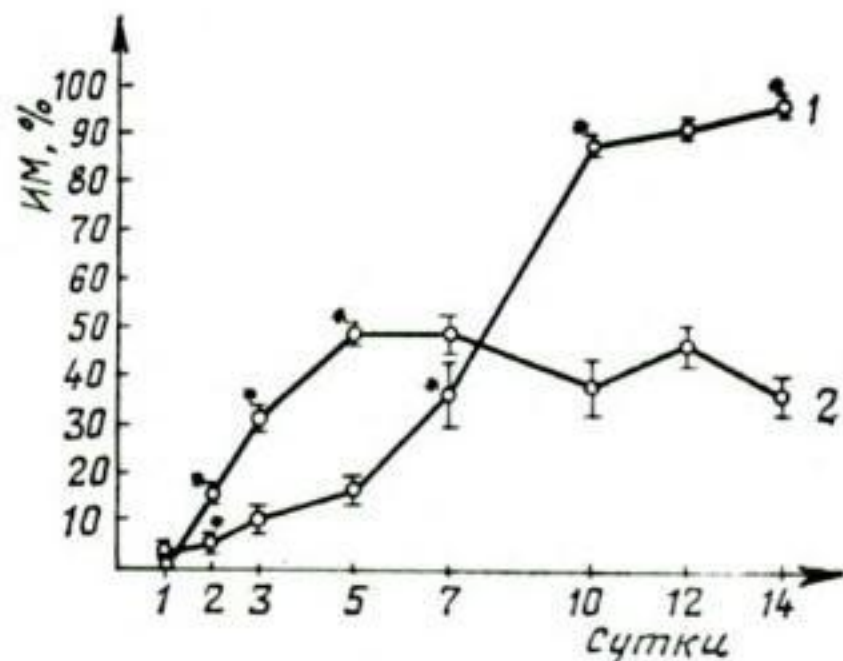


Рис. 2. Десятидневный эксплантат трупной кожи. Фрагмент дермы. Гематоксилин и эозин, 900 х.

Рис. 3. Пролиферация базальных эпидермоцитов эксплантатов трупной кожи в присутствии ^3H -тимидина:

1—материал через 18—24 ч хранения при температуре 4°C в воздушной среде, 2—фрагмент кожи через 18—21 ч хранения при температуре 4°C , 3ч в 15%-ном растворе ПЭО-400; *—различия между последовательно сравниваемыми значениями индекса метки статистически достоверны.

криоконсервирования, приводил к уменьшению пролиферативного пула базальных эпидермоцитов по сравнению с соответствующим показателем исходного материала, перенесшего только гипотермическое хранение.

При изучении индекса мечения ядер клеток эксплантатов реконсервированной трупной кожи (3 серия) в первые 10 *сут* культивирования в составе эпидермиса не обнаружены меченные ^3H -тимидином клетки. При этом в эпидермисе наблюдались дистрофические процессы разной степени выраженности; клеточные элементы дермы выглядели малоизмененными, хотя интенсивного включения меченого предшественника не было; с 7 *сут* имелись единичные случаи включения меченого предшественника в эпителиальную выстилку волосяных фолликулов. К 14 *сут* в эксплантатах, в состав которых попали волосяные фолликулы, отмечены интенсивно включающие метку клетки базального слоя этих придатков кожи. Эксплантаты, в которых не оказалось дериватов кожи, ДНК-синтезирующей способности в течение срока исследования не проявили.

При сравнении прироста количества меченых ядер базальных клеток интактных и экспонированных в среде замораживания кожных лоскутов заметно нарастание числа клеток в синтетической фазе после контакта с 15 %-ным раствором ПЭО-400 только в течение первых 5 *сут* культивирования, после чего этот показатель остается практически на одном уровне, составляющем примерно 50 % от нормального (см. рис. 3). В то же время в ядрах эпидермоцитов эксплантатов из лоскутов, перенесших только хранение при 4°C , увеличение числа меченых клеток наблюдается на протяжении всего периода культивирования, достигая значений, близких к 100%.

Складывается впечатление, что первичная реакция камбиальных клеток эпидермиса на контакт с криопротектором — усиление синтетических процессов, в дальнейшем же включение меченого предшественника тормозится, и пролиферативный пул вдвое меньше, чем в интактных эксплантатах. Поскольку основные ростовые характеристики эксплантатов исходного материала и инкубированного 3 ч в криозащитной среде (сроки эпидермиса, переход к паракератозу и др.) близки, исключая признаки более раннего разрыхления эпидермиса и сниженную способность эпидермоцитов к прикреплению и распластыванию на фильтре [1], объяснение наблюдаемому эффекту можно ожидать в свойствах собственно криопротектора.

Считают, что в основе механизма защитного действия растворов ПЭО-400 лежат его дегидратирующие и осмотические свойства, вызывающие как криозащитный, так и ингибирующий метаболизм эффекты. Показано, что ПЭО-400 способен специфически взаимодействовать с клеточной мембраной [3]. Можно предположить, что такое взаимодействие блокирует нормальный транспорт ^3H -тимидина в клетку. Известно, что лимитирующим звеном в процессе включения экзогенного тимидина в ДНК является транспорт через мембрану, однако пролиферация при этом может происходить обычным образом [7]. Зная, что длительность клеточного цикла кератиноцитов в эпидермисе колеблется от 152 до 457 ч [9], можно полагать, что в течение 14 сут наблюдения (336 ч) заблокированные клетки не включают радиоактивную метку. С другой стороны, существующие представления об эпидермальной пролиферативной единице [8] позволяют допустить неодинаковую чувствительность эпидермоцитов к действию ПЭО-400. Нельзя также исключить другие механизмы угнетения включения ^3H -тимидина, вплоть до прямой ингибиции синтеза ДНК.

Таким образом, контакт изолированной трупной кожи человека на протяжении 3 ч с криозащитной средой, содержащей 15 %-ный ПЭО-400, вызывает угнетение включения радиоактивного тимидина в процессы синтеза ДНК эпидермоцитами эксплантатов в органной культуре. Механизмы, лежащие в основе наблюдавшегося явления, нуждаются в дальнейшем исследовании.

Существенные различия в поведении эксплантатов, культивированных в присутствии ^3H -тимидина и без него, могут свидетельствовать о дополнительных повреждающих влияниях этого предшественника синтеза ДНК на клетки, подвергавшиеся действиям среды консервирования и замораживанию-отогреванию. Считают, что радиационный эффект ^3H -тимидина на клетки может заметным образом сказываться только в условиях длительного эксперимента [2]. Применявшаяся нами доза 0,1 мкКи/мл в течение 14 сут ежедневно при условии полной смены жидкой фазы каждые 48 ч не вызвала заметных изменений в исходном для криоконсервирования материале, поэтому вряд ли может считаться повреждающим фактором. Видимо, низкотемпературное консервирование обеспечивает биологическую сохранность только наиболее стабильных структур кожи — камбиального эпителия волосяных фолликулов.

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

- индекс метки базальных эпидермоцитов при органном культивировании трупной кожи человека, хранившейся 18—24 ч при температуре 4 °С, при насыщающем мечении ^3H -тимидином возрастает в течение срока наблюдения и достигает к 14 сут значений, близких 95 %;

- индекс метки базальных эпидермоцитов эксплантатов трупной кожи человека, перенесшей в периоде гипотермического хранения трехчасовой контакт с 15 %-ным раствором ПЭО-400, нарастает только до 5 сут культивирования, приближаясь к 50 % от общего количества базальных клеток;

- использование насыщающей метки ^3H -тимидином при культивировании эксплантатов реконсервированного материала позволяет выявить синтетические процессы лишь в наиболее устойчивых элементах кожи — базальных эпидермоцитах волосяных фолликулов.

1. Волкова Н. А., Сандомирский Б. П. Влияние ПЭО-400 на развитие эксплантатов трупной кожи человека в органной культуре // Криобиология и криомедицина. — 1982. — Вып. 10. — С. 69—74.
2. Епифанова О. И., Терских В. В., Захаров А. Ф. Радиоавтография. — М.: Высшая школа, 1977. — 248 с.
3. Иванов Л. В., Гаврилова И. Н., Моисеев В. А. Исследование действия низких температур и криопротекторов на структуру мембран эритроцитов методом спиновых меток // Механизмы криоповреждения и криозащиты биологических структур. — К.: Наук. думка, 1977. — С. 33—34.
4. Сандомирский Б. П. Криоконсервирование кожи человека // Актуальные проблемы криобиологии. — Киев: Наук. думка, 1981. — С. 360—371.
5. А.с. 549123 СССР, МКИ² А 01 N 1/02. Способ консервирования кожи человека / Н. С. Пушкарь, Д. Е. Пекарский, Б. П. Сандомирский и др. — Оpubл. 05.03.77, Бюл. № 9.
6. Palmer B. Erfahrungen mit lebender tiefgekühlter und lyophilisierter Spalthaut als biologischen Verband // Zbl. Chir. — 1974. — 99, N 35. — S. 1101—1104.
7. Plagemann P. G. W., Erbe J. Thymidine transport by cultured Novikoff hepatoma cells und uptake by simple diffusion and relationship to incorporation into deoxiribonucleic acid // J. Cell. Biol. — 1972. — 55, N 1. — P. 161—178.
8. Potten C. S. The epidermal proliferative unit: the possible role of the central basal cell // Cell and Tissue Kinet. — 1974. — 7, N 1. — P. 77—88.
9. Wrigth N. Cell population kinetics in human epidermis // Int. J. Dermatol. — 1977. — 16, N 6. — P. 444—463.

Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступила 01.02.85

УДК 616.314.17—008:616.089.583.29+615.835.3

В. А. Никитин, В. Ф. Куцевляк, А. Б. Пурене

ДИНАМИКА КИСЛОРОДНОГО РЕЖИМА ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА У БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТАМИ В ПРОЦЕССЕ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ, ВКЛЮЧАЮЩЕЙ ОКСИГЕНАЦИЮ В УСЛОВИЯХ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ

Напряжение кислорода (pO_2) является своеобразным показателем, характеризующим общее состояние обменных процессов (трофику) в тканях и их функциональное состояние. В терапевтической стоматологии представляет интерес определение уровня напряжения кислорода в тканях пародонта, поскольку известно, что одним из инициальных факторов развития патологического процесса в тканях пародонта является нарушение микроциркуляции, приводящее к развитию гипоксии.

Как известно, гипоксия, или кислородная недостаточность — состояние, развивающееся при недостаточном снабжении тканей кислородом при нарушении его утилизации в процессе биологического окисления. Гипоксия является часто патогенетической основой разнообразных патологических процессов и приводит к различным морфофункциональным нарушениям, вплоть до гибели ткани. Установлено [3], что ткани пародонта обладают значительной чувствительностью к недостатку кислорода, а уменьшение поглощения кислорода клетками слизистой десны при пародонтозе объясняется наличием дистрофических изменений в тканях пародонта. Гипоксия ускоряет истощение запасов витамина С в сосудах десны, что сопровождается значительными изменениями в сосудистом русле пародонтальных тканей.

В современной литературе по стоматологии гипоксия тканей пародонта рассматривается как кислородное голодание циркуляторного типа, развивающееся вследствие нарушения трофики опорного аппарата зубов [4]. Для определения кислорода в тканях используется полярографический метод, который позволяет проводить динамическое наблюдение за функциональным состоянием тканей пародонта в процессе комплексной терапии.

В работе применен контактный метод полярографических исследований [1], разработанный в Центральном научно-исследовательском институте сто-

матологии, который позволяет определять кислород, диффундирующий из капилляров слизистой оболочки десны через тонкий слой эпителия к его открытой поверхности. Использование контактного полярографического электрода открытого типа исключает отрицательное влияние на точность измерения pO_2 , которое наблюдается в ответ на введение игольчатого электрода в десневой сосочек [2]. В качестве основных критериев оценки кислородного режима исследуемых тканей использовали следующие параметры: 1 — исходный уровень pO_2 , 2 — первый латентный период (время от начала вдыхания кислорода до начала подъема кривой полярограммы), 3 — скорость подъема полярографической кривой от ее начала до максимального уровня, 4 — максимальный уровень подъема pO_2 при вдыхании кислорода, 5 — второй латентный период (время от окончания подачи кислорода до начала падения кривой), 6 — уровень pO_2 после возвращения кривой на прежний уровень. Затем по формуле [4], учитывая указанные показатели и атмосферное давление, температуру воздуха, давление водяного пара при данной температуре, температуру слизистой оболочки, определяли уровень напряжения кислорода в исследуемой ткани.

С целью изучения кислородного режима в тканях пародонта при диагностике и оценке эффективности комплексной терапии с применением оксигенации в условиях локальной гипотермии у 64 больных с генерализованной формой пародонтита изучены параметры кислородного режима тканей пародонта (у 17 больных был диагностирован пародонтит легкой формы, у 26 — средней, у 21 — тяжелой формы). Больных обследовали дважды — до лечения и после проведенного курса лечения. Было отмечено, что при заболеваниях пародонта наблюдается достоверное снижение исследуемых параметров кислородного режима по сравнению с нормой, свидетельствующее о наличии гипоксии. Однако при различных формах заболевания пародонта механизм развития гипоксии имеет определенные особенности. При легкой форме генерализованного пародонтита происходит снижение исходного уровня pO_2 до $34,6 \pm 2,4$ мм рт. ст., что ниже показателя при здоровом пародонте на 17,2 %, максимальный уровень при кислородной пробе составил $142,6 \pm 6,7$ мм рт.ст., что ниже по сравнению с нормой на 24 %. После проведенного лечения у 92 % больных параметры кислородного режима достигают нормы, а у 6 % больных были выше нормы.

При средней и тяжелой форме генерализованного пародонтита нами отмечена разница в показателях pO_2 у лиц с обострившимся и хроническим течением. У лиц с обострившимся течением параметры кислородного режима были следующими: исходный уровень pO_2 — $38,2 \pm 0,3$ мм рт. ст., т. е. приближался к норме ($41,66 \pm 0,3$ мм рт. ст.), но максимальный уровень при кислородной пробе был достоверно снижен и составил $143,2 \pm 3,5$ мм рт. ст. при норме $187,63 \pm 0,4$ мм рт. ст. Эти данные свидетельствуют о наличии воспалительной гиперемии, которая развивается на фоне сниженного потребления кислорода. У лиц с хроническим течением пародонтита до лечения определялось достоверное снижение исходного уровня pO_2 , которое составило $32,5 \pm 1,4$ мм рт. ст., максимальный уровень при кислородной пробе соответственно составил $134,2 \pm 5,9$ мм рт. ст. Кроме того, время доставки кислорода (при норме $12,2 \pm 0,3$ с) составило $15,7 \pm 1,5$ с, что достоверно увеличено по сравнению с нормой.

После проведенного курса лечения исходный уровень pO_2 у 72 % больных достоверно от нормы не отличался и составил в среднем $39,4 \pm 0,3$ мм рт. ст., а у 28 % — был ниже нормы и составил $35,2 \pm 1,2$ мм рт. ст. Время доставки кислорода достоверно уменьшилось и составило $13,1 \pm 0,2$ с, что свидетельствует о нормализации метаболических процессов в тканях пародонта под действием проведенной терапии.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать вывод, что при легкой форме генерализованного пародонтита, когда гипоксия обусловлена функциональными изменениями в системе регионарной гемодинамики, комплексная терапия с включением оксигенации способствует нормализации параметров кислородного режима в 92 %. При

средней и тяжелой формах, при которых гипоксия продолжается вследствие появления и прогрессирования морфофункциональных изменений в пародонте, параметры кислородного режима после проведенного курса лечения нормализуются у 72 % больных.

Включение в комплексную терапию заболеваний пародонта оксигенации в условиях локальной гипотермии способствует нормализации параметров кислородного режима тканей пародонта.

1. Вольвач С. И., Бобровницкий М. П., Коваленко Е. А. Контактный метод полярографических исследований слизистой оболочки десны // Тр. VII Всесоюзного съезда стоматологов. — 1981. — С. 296—297.
2. Вольвач С. И. Разработка неинвазивного измерения парциального давления кислорода в слизистой оболочке десны // Функциональная диагностика в стоматологии. — 1984. — 14. — С. 72—78.
3. Новик И. О. Пародонтоз. — К. : Здоровье, 1964. — 325 с.
4. Прохончуков А. А., Логинова Н. К., Жижина Н. А. Функциональная диагностика в стоматологии. — М.: Медицина, 1980. — 272 с.

Украинский институт
усовершенствования врачей,
г. Харьков

Поступила 08.04.85

УДК 57.043

**А. И. Миляновский, В. М. Гордиенко, Ю. Н. Муськин,
А. Я. Сенчук, Я. В. Жарков**

ЛЕЧЕНИЕ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ДИСПЛАЗИЙ ШЕЙКИ МАТКИ КРИОВОЗДЕЙСТВИЕМ

Среди гинекологических заболеваний женщин одно из первых мест принадлежит воспалительным и диспластическим процессам шейки матки [1, 2]. Консервативное лечение этих состояний (лекарственная терапия, электрокоагуляция) часто является малоэффективным [3]. В гинекологической практике при тяжелых дисплазиях шейки матки основным методом лечения является хирургическая конизация. Этот метод обеспечивает выздоровление более чем в 95 % случаев, однако лечение требует госпитализации и нередко сопровождается послеоперационным кровотечением и рядом других осложнений. Кроме того, конизация приводит к обострению воспалительных процессов, нарушению менструального цикла и нарушению детородной функции, проявляющемуся в бесплодии, самопроизвольных абортах и преждевременных родах. Нередко наблюдаются осложнения во время родов.

Терапия диспластических процессов в шейке матки углекислым лазером непрерывного излучения значительно повысила эффективность лечения. Однако этот метод позволяет устранить лишь очаг дисплазии, в то время как гипертрофия шейки матки и рубцовые ее изменения, способствующие возникновению и дальнейшему возможному развитию опухолевого процесса, не ликвидируются. Глубина воздействия углекислого лазера ограничивается 3—5 мм.

В последнее время для лечения рецидивирующих дисплазий стали применять методы криохирургии [4, 5]. По данным литературы, при криовоздействии мало повреждается здоровая окружающая ткань, не возникает кровотечений, отсутствуют стенозы цервикального канала, сохраняется менструальная и детородная функции. Очаги криодеструкции быстро заживают и дают хороший косметический эффект. Широкое внедрение криогенного метода в гинекологию в настоящее время еще ограничено в связи с возможными рецидивами из-за отсутствия оптимальных режимов воздействия в зависимости от структурных изменений шейки матки и от тяжести процесса [6]. Недостаточно четко сформулированы показания и противопоказания для использования данного метода.

Под наблюдением находилось 460 женщин в возрасте от 19 до 50 лет. Из них 272 больные с рецидивирующей эпителиальной дисплазией шейки матки, у 88 эпителиальная дисплазия сочеталась с эктропионом, у 67 — с субэпителиальным эндометриозом, у 22 — с аденомиозом и у 13 — с лейкоплакией. Все больные ранее длительно и безуспешно лечились традиционными методами (лечебные спринцевания, мазевые тампоны, электрокоагуляция).

Диагноз — эпителиальная дисплазия шейки матки — устанавливался на основании всестороннего клинического и лабораторного обследования. Вопрос о показаниях к криовоздействию и методике его проведения решался в зависимости от тяжести и характера патологического процесса шейки матки после кольпоскопического, цитологического и в ряде случаев гистологического исследований. Противопоказаниями к криохирургическому лечению являлись острые и подострые воспалительные заболевания внутренних половых органов, интеркуррентные инфекционные заболевания, специфические процессы на шейке матки (сифилис, туберкулез, мягкий шанкр).

Лечение больных проводилось с помощью автономного криохирургического аппарата, работающего по принципу принудительной циркуляции жидкого азота. Температура крионаконечника снижалась до $-140 \div -170^\circ\text{C}$ за 1 мин 30 сек — 2 мин, а затем включали отогрев, который длился до 4 мин. Эффект криовоздействия на патологически измененные ткани шейки матки достигался быстрым охлаждением и медленным отогревом. Выбор формы криоаппликатора производился в зависимости от степени поражения желез цервикального канала и обширности патологического очага на шейке матки. Так, при вовлечении в процесс цервикального канала применялся конусовидный, удлиненный наконечник № 1 (рис. 1), который вводился в наружный зев канала на глубину 20—25 мм. Плоский наконечник № 2 (рис. 2) применялся при поражении эпителия без вовлечения в процесс слизистой цервикального канала.

Для лечения легкой и умеренной дисплазии применяли одноэтапное воздействие, а для лечения тяжелых форм дисплазии — двухэтапное, первоначально криовоздействие длилось 4 мин, а затем после полного оттаивания шейки матки повторно в течение 4 мин. Криодеструкцию обширных поражений шейки матки осуществляли в несколько приемов таким образом, чтобы зоны замораживания перекрывались. Все криохирургические воздействия осуществляли без обезболивания в амбулаторных условиях. Наши наблюдения показали, что криовоздействие не отразилось на трудоспособности больных как в день операции, так и в последующие дни, не возникало также необходимости в медикаментозной обработке очага крионекроза. В течение первых суток после криовоздействия шейка матки была гиперемированной и отечной. На 3-й день на месте криовоздействия образовалась белесоватая желеобразная пленка. На 3—4-е сутки была четко видна демаркационная линия, отделяющая некротизированные ткани от неизмененных. На 3—5-й неделе начинался процесс отторжения некротических масс, который протекал одновременно с процессом эпителизации. К концу 6-й и началу 7-й недели наступала полная эпителизация раневой поверхности.

Повторные цитологические и кольпоскопические исследования проводили через 4—8 недель и через 6 месяцев после лечения. Критерием эффективности лечения была полная нормализация клинической картины заболевания и отсутствие цитологических изменений отделяемого из шейки матки.



Рис. 1. Конусовидный удлиненный наконечник.



Рис. 2. Плоский наконечник.

Изучение результатов лечения через 1—3 года показало, что полное выздоровление наступило у 96,6 % больных. У 16 обнаружены рецидивы эпителиальных дисплазий шейки матки легкой и средней степени. После повторного двухэтапного криовоздействия у этих больных наступило выздоровление. За указанный период наблюдения у 17 женщин наступила беременность (в том числе у 3-х с диагностированным до лечения первичным бесплодием). Нормальные роды произошли у 5 женщин, в 7 случаях произведено искусственное прерывание беременности по желанию женщин у 5 беременность в момент обследования протекала без признаков патологии.

Таким образом, анализ результатов лечения позволяет сделать вывод о том, что криохирургическое воздействие на шейку матки при тяжелых формах эпителиальных дисплазий является эффективным методом лечения. При лечении методом криохирургии не применяется наркоз, а операция может выполняться амбулаторно. У больных не возникает послеоперационного бесплодия и сохраняется менструальный цикл. Для повышения эффективности лечения шейки матки, локализации процесса, в зависимости от вида патологии и возраста больных, целесообразна разработка и совершенствование методов криохирургического воздействия.

1. Бакшеев Н. С., Милановский А. И., Ильяшенко Н. А. Злокачественные новообразования женских половых органов.— М.: Медицина, 1977.— 326 с.
2. Винницкая В. К. Рак шейки матки. Онкологическая гинекология / Под ред. В. К. Винницкой.— Киев: Здоров'я, 1983.— С. 139—162.
3. Гиговский Е. Е., Малышева З. В. О ретроцервикальных и цервикальных эндометриозах после диатермокоагуляции эрозии шейки матки // Акушерство и гинекология.— 1974.— № 5.— С. 72—73.
4. Грищенко В. И. Гипотермия и криохирurgia в акушерстве и гинекологии.— М.: Медицина, 1974.— 280 с.
5. Запорожан В. Н. Криогенный метод лечения некоторых заболеваний шейки матки. (Экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Одесса, 1976— 27 с.
6. Запорожан В. Н. Возможность усиления биологического действия низких температур при лечении патологии шейки матки // Сов. медицина.— 1981,— № 12.— С. 112—114.

Киевский ордена Трудового Красного Знамени
медицинский институт им. акад. А. А. Богомольца

Поступила 12.07.85

УДК 515.472:616.831—089.2:615:832.97/98

**Б. Н. Муринец-Маркевич, А. Р. Красников, В. Н. Замошников,
Н. В. Кузнецова, С. Н. Шнее**

КРИОГЕННЫЕ ИНСТРУМЕНТЫ И АППАРАТЫ ДЛЯ СТЕРЕОТАКСИЧЕСКОЙ НЕЙРОХИРУРГИИ

В Физико-техническом институте низких температур АН УССР разработан автономный нейрохирургический криозонд [1], который по сравнению с известными не нуждается в шлангах для подвода и отвода хладагента к сосуду Дьюара и вакуумному насосу. Благодаря сменным ампулам обеспечена возможность длительного криовоздействия и отогрева.

На рисунке 1 изображен криозонд КМ-16, который состоит из канюли диаметром 2 мм, термопары, азотной ампулы, шланга и блока измерения. Принцип работы прибора заключается в том, что жидкий азот под влиянием теплопритоков из внешней среды испаряется в герметичной азотной ампуле и под воздействием избыточного давления паров осуществляется непрерывная подача жидкого азота по сифону и трубке в теплообменник рабочего наконечника, в котором происходит подвод тепла. Канюля имеет рубашку с вакуумной изоляцией. Рубашка предохраняет мозговую ткань пациента от воздействия низких температур наружной поверхности канюли (иглы). Поверхность кончика канюли защитной рубашки не имеет и является ра-

бочей поверхностью канюли. Криовоздействие на мозг или опухоль производится контактным путем, для чего рабочая поверхность кончика наконечника (канюли) прикладывается к опухоли или мозговой структуре. К внутренней поверхности наконечника припаяны провода термопары, которые подключаются к блоку измерения для замера температуры на кончике наконечника. По температуре наконечника определяют температуру воздействия на прилежащий участок мозга или опухоль. Прекращение криовоздействия производится путем выключения подачи жидкого азота в наконечник.

Результаты клинических исследований показали, что криозонд КМ-16 удобен в эксплуатации и компактен. Министерством здравоохранения СССР криозонд КМ-16 рекомендован к серийному производству и клиническому применению.

Несмотря на успешное развитие стереотаксического метода, нейрохирургу приходится сталкиваться с рядом затруднений при выборе аппарата из существующего множества конструкций, обеспечивающего возможность

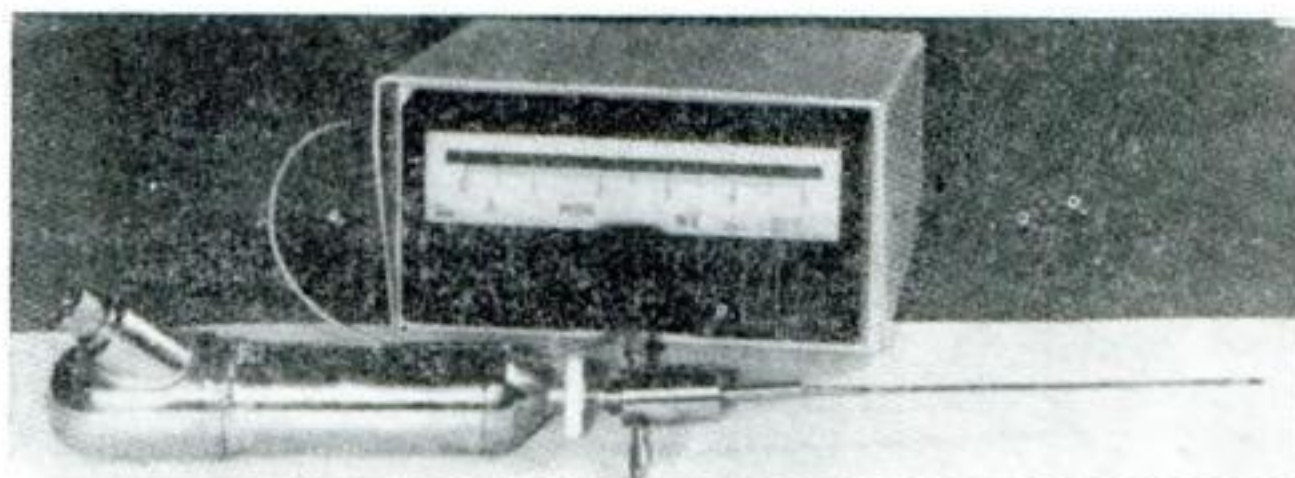


Рис. 1. Нейрохирургический криозонд.

эффективного лечения, высокую точность попадания в структуру мозга при деструкции или физиологическом контроле при минимальной травматизации.

С момента создания первого стереотаксического аппарата Д. Н. Зерновым в 1889 г. разработано много различных вариантов конструкций и их модификаций. Обеспечивая достаточно высокую точность введения диагностических электродов и приспособлений для деструкции мозгового вещества, аппарат должен иметь малый вес, так как вся его конструкция крепится на голове больного. Вследствие этого создаются неудобства в манипулировании аппаратом, затрудняется подход к операционному полю, а также нет возможности проводить операции со стороны носа — на гипофизе.

Для решения технической задачи, связанной с устранением вышеизложенных недостатков, в Физико-техническом институте низких температур АН УССР разработан новый стереотаксический аппарат [2], конструкция которого изображена на рис. 2.

Стереотаксический аппарат содержит основание 1 с фиксирующими элементами 2 в виде прихватов, дополнительное основание 17, установленное на основании 1 с возможностью продольного перемещения, держатель 14 инструмента 6, установленный на каретке 13, дугу 12, несущую каретку 13, подъемник 7, выполненный в виде шарнирного параллелограмма, на котором установлена дуга 12 с возможностью поперечного перемещения относительно основания 1. Подъемник 7, установленный на основании 1 с возможностью продольного перемещения, оборудован приводом, выполненным в виде тяг 8 с маховичком 9 для продольного перемещения, и червячной парой 10 для плоско-параллельного перемещения. Подъемник 7 выполнен со щеками 5, имеющими направляющие пазы 19 для установки дуг 11 и 20 в одной из двух возможных противоположно направленных позиций. Держатель 14 инструмента 6 снабжен линейкой 15. Дополнительное основание 17 имеет привод 18 в виде зубчатых реек и сменный регулируемый по высоте подголовник 16. Для фиксации головы больного в подголовнике на основании 17 установлена с возможностью перемещения дуга 3 с фиксирующими винтами 4.

Аппарат используется следующим образом. Основание 1 с помощью прихватов 2 закрепляется на операционном столе. После предварительного введения рентгеноконтрастного вещества в желудочковую систему мозга укладывают голову больного на подобранный по размеру углубления и установленный на основании подголовник 16. Голову фиксируют с помощью винтов 4, вставляют в основание стола горизонтальную и боковую кассеты с рентгеновскими пленками (не показаны), причем между кассетами и головой больного помещают координатные решетки. Все подвижные элементы аппарата выставляют на нулевые отметки соответствующих шкал. Подводят центр вращения рабочего инструмента 6 к трепанационному отверстию в черепе больного на расстоянии 5—10 мм. Проводят рентгенографию больного, после чего совмещают координаты стереотаксического аппарата с плоскостями мозга, осуществляют повторную рентгенографию и определяют координаты искомых точек мозга. Полученные данные переводят в координатную систему аппарата.

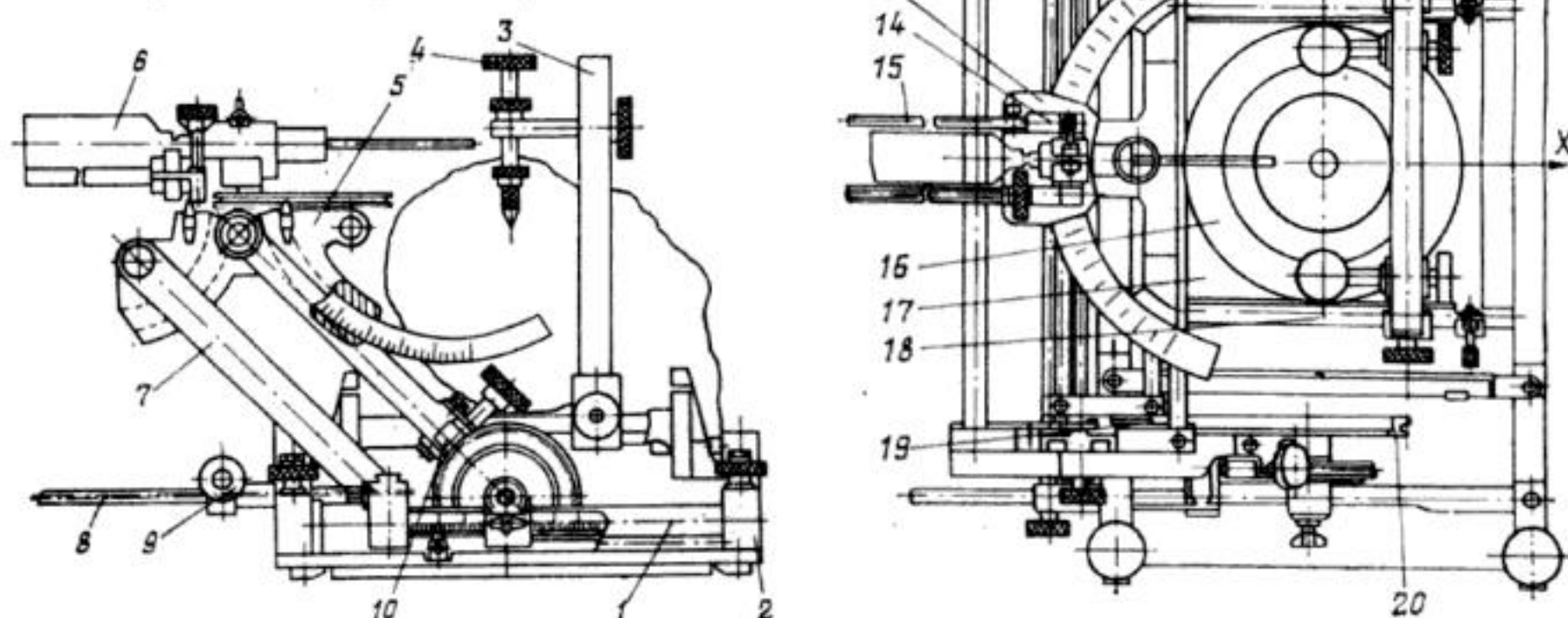


Рис. 2. Конструктивная схема стереотаксического аппарата: а—вид сбоку, б—вид сверху.

Положение каретки 13 корректируют по шкалам дуг 11 и 20. При этом возможность перемещения каретки 13 по дуге 12 вокруг оси x и возможность перемещения дуги 12 вокруг оси y обеспечивает установку оси рабочего инструмента 6 в любом направлении. Продольное и плоскопараллельное перемещение подъемника 7 и поперечное перемещение дуги 12 позволяют установить центр вращения рабочего инструмента на любой точке свода черепа. Основным перемещением держателя 14 обеспечивается любая глубина погружения рабочего инструмента 6. Специальное расположение направляющих пазов 19 в щеках 5 позволяют установить каретку 13 в двух взаимно противоположных позициях: в позиции, когда прицельное введение рабочего инструмента 6 в заданную структуру мозга производится со стороны костей свода черепа, и в позиции со стороны носовой полости.

С помощью стереотаксического аппарата УМ-10 в Центральной клинической больнице № 5 МПС в течение 5 лет методом замораживания криозондом КМ-16 осуществлялось лечение различных заболеваний центральной нервной системы: эпилепсии, внутримозговых опухолей, болевых синдромов и паркинсонизма.

Клинические наблюдения показали, что применение в новом стереотаксическом аппарате подъемника типа шарнирного параллелограмма, установка его на основании с возможностью перемещения и закрепления на нем дуги, несущей каретку с держателем инструмента, позволяет хирургу манипулировать при помощи только одного держателя инструмента. Криохирургический инструмент в новом стереотаксическом аппарате имеет все возможные свободы, обеспечивая высокую точность попадания его в заданную точку мозга, освобождается операционное поле, кроме того, обеспечено удобство расположения больного.

1. Веркин Б. И., Сипитый В. И., Муринец-Маркевич Б. И. и др. Автономный нейрохирургический криозонд // Мед. техника.— 1977, № 1.— С. 32—34.
2. А.с. 848018 СССР, МКИ² А 61 В 19/00. Стереотаксический аппарат / Л. В. Зелонджев, В. Н. Замошников, Н. В. Кузнецова.— Оpubл. 23.07.81, Бюл. № 27.

Физико-технический институт
низких температур АН УССР,
г. Харьков

Поступила 04.06.85

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 616.767.2—002—085

А. И. Жигун

ПРИМЕНЕНИЕ ХОЛОДА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭПИКОНДИЛИТОВ ПЛЕЧА

Проблема лечения эпикондилитов плеча до настоящего времени не решена. Это связано с высокой частотой возникновения и недостаточной эффективностью существующих методов лечения данной патологии. Одним из широко применяемых методов лечения эпикондилита плеча являются инъекции кортикостероидных препаратов в болевую точку. Однако применение этих препаратов у 2—27 % больных, по данным некоторых авторов [1,3], приводит к осложнениям, которые проявляются в виде флегмон, абсцессов, остеомиелитов [2, 4].

Все вышеуказанное послужило основанием для поиска нового, более совершенного способа, исключающего осложнения. Наше внимание привлек криохирургический метод, который нашел широкое применение во многих областях практической медицины. Столь широкому внедрению данного метода способствовали безболезненность вмешательства, гемостатический эффект, минимальное количество осложнений и отсутствие побочных реакций со стороны организма. Но наряду с указанными достоинствами имеются и определенные ограничения применения этого метода, связанные с трудностью прогнозирования объема криодеструкции.

Нами был экспериментально обоснован и клинически апробирован у 38 больных в возрасте от 28 до 65 лет способ лечения эпикондилитов плеча криовоздействием. Лечение проводилось на базе Харьковского НИИ ортопедии и травматологии МЗ УССР им. проф. М. И. Ситенко. Из общего числа больных мужчин было 22, женщин — 16. У 28 больных был правосторонний наружный эпикондилит плеча, у 2 — правосторонний внутренний, у 6 — левосторонний наружный эпикондилит и у 2 — двусторонний наружный. Хроническая форма заболевания имела у 25 больных.

Криовоздействие осуществляли криогенным аппаратом «Крио-3» с диаметром аппликатора 0,2 см. Температура рабочей части криоинструмента — $160 \div -165$ °C, длительность аппликации 3 мин, число аппликаций определялось размерами патологического очага и составляло 1—3 в один сеанс.

Криовоздействие проводили по следующей методике: предварительно методом локальной пальпации определяли границы патологического очага. В области предполагаемого прокола внутрикожно проводили местную анестезию раствором новокаина. После анестезии осуществляли прокол кожи троакаром, игла извлекалась и через проводник проводилось криовоздействие, как правило, безболезненно, в ряде случаев больные ощущали легкое жжение.

При клиническом обследовании было выявлено, что у 12 больных эпикондилит плеча протекал на фоне корешкового синдрома шейного отдела позвоночника, который проявлялся положительным симптомом Бертчи-Роше, болезненностью паравerteбральных (на уровне C_5-C_7) точек на стороне поражения. Это дает основание считать, что помимо местной травматизации в развитии эпикондилитов плеча следует учитывать и патологические состояния в шейном отделе позвоночника, которые вызывают нейро-вегетативные реакции верхней конечности и затрудняют лечение. Поэтому больным, у которых эпикондилит плеча сочетался с корешковым синдромом, криовоздействие дополняли ортопедическим лечением, которое включало массаж «воротниковой зоны», ношение воротника Шанца, электрофорез LiCl на межлопаточную область. При проведении криовоздействия ни в одном случае не наблюдали каких-либо осложнений.

Ближайшие результаты лечения (до 6 мес.) у 79 % больных — хорошие, у 10,5 % — удовлетворительные, у 10,5 % — неудовлетворительные. В 3 случаях отмечался рецидив болезни, что, очевидно, связано с недостаточным промораживанием тканей патологического очага из-за его больших размеров.

Отдаленные результаты (до 3 лет) у 87,1 % больных — хорошие, у 9,7 % — удовлетворительные, у 3,2 % — неудовлетворительные.

Таким образом, криовоздействие может служить одним из методов лечения эпикондилитов плеча и может быть применено лицам всех возрастных групп, так как не оказывает отрицательного побочного действия на организм в целом.

1. Наговицын Е. С. Осложнения после местного применения гидрокортизона // Клиническая хирургия.— 1971, № 3.— С. 51—53.
2. Сахаутдинов В. Г. Остеомиелит после введения гидрокортизона / Хирургия.— 1977, № 6.— С. 112—114.
3. Щекетов Г. М. Эпикондилит и его лечение гидрокортизоном // Хирургия.— 1970, № 9.— С. 89—92.
4. Элькин М. А. Профессиональные хирургические болезни рук.— Л. : Медицина, 1971.— 232 с.

Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР, г. Харьков

Поступило 02.04.85

УДК 612.351.5—001.19

И. В. Слега

НАЧАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОГЕМОЦИРКУЛЯЦИИ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНЫХ КРИОВОЗДЕЙСТВИЙ

Прижизненная люминесцентная биомикроскопия печени выполнена на крысах после локальных криовоздействий в течение двух минут, осуществленных аппликатором диаметром 1,5 мм с температурой -93°C . При этом оценивался характер кровотока в синусоидах и терминальных печеночных венах.

Дополнительные сведения об изменениях микрогемоциркуляторного русла получены путем регистрации интенсивности свечения внутривенно введенного уранина в терминальных сосудах печени, для чего применены фотометрическая насадка ФМЭЛ-1 и контактный микроскоп ЛЮМАМ К-1. Для индикации нарушений сосудисто-тканевой проницаемости использован глобулин, меченный изотиоцианатом флуоресценна (ФИТЦ).

Установлено, что применяемое криовоздействие вызывает оледенение участка печени диаметром 8 мм, который после полного оттаивания имеет фиолетовое окрашивание и четко очерчен. В зоне воздействия возникает кратковременный спазм всех элементов микроциркуляторного русла, сменяющийся их продолжительной дилатацией, гемостаз без восстановления функций микрососудов.

На протяжении 3—4 мм от границы зоны оледенения наблюдалось нарушение агрегатного состояния крови с образованием пристеночных тромбов. В течение 10—15 мин после криовоздействия микрососуды пограничной зоны сужены, затем их диаметр значительно увеличивается, кровоток замедляется. Сосудисто-тканевая проницаемость к глобулинам нарушена, что выражается в тотальной флуоресценции цитоплазмы гепатоцитов пограничной зоны.

Кровообращение в участках печени, удаленных от места криовоздействия, характеризуется стойким равномерным увеличением просветов микрососудов, замедлением кровотока, исключением части синусоидов. Признаков нарушений сосудисто-тканевой проницаемости к глобулинам не обнаружено.

Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступило 02.04.85

УДК 57.043.548

Н. В. Репин, А. Ф. Тодрин

ОЦЕНКА УСЛОВИЙ ОХЛАЖДЕНИЯ, ПРИВОДЯЩИХ К СТЕКЛОВАНИЮ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ГЛИЦЕРИНА

В литературе имеются противоречивые данные о численных значениях скоростей охлаждения, приводящих при замораживании к стеклованию водных растворов криопротекторов и биологических объектов [4, 5]. Неясно, как влияют криопротекторные добавки различной концентрации на изменение скорости охлаждения, приводящей к стеклованию. Считается, что присутствие криопротекторов (обычно не более 40 %) позволяет значительно снизить скорость охлаждения растворов и наблюдать стеклование при скоростях охлаждения $100 \text{ град} \cdot \text{с}^{-1}$ [4], $1000 \text{ град} \cdot \text{с}^{-1}$ [5]. Нами предпринята попытка теоретически оценить скорости охлаждения водных растворов глицерина, при которых наблюдается их переход в стеклообразное состояние. Согласно [2], раствор затвердевает аморфно, если в замораживаемом объекте присутствует доля кристаллической фазы (X) не более 10^{-6} . Выбор такого критерия считается приемлемым, так как существующие физические методы исследования структуры не позволяют вы-

явить столь малую долю кристаллического вещества. Минимальная скорость охлаждения, необходимая для перевода расплава в стеклообразное состояние, определяется уравнением [2]:

$$\dot{T}_{\min} = (T_{\text{пл}} - T_m) / \tau_{\min}, \quad (1)$$

где $\tau_{\min}$ — минимальное значение времени τ на температурной зависимости $\tau(T)$ при температуре T_m . Температурная зависимость времени $\tau(T)$, необходимого для кристаллизации заданной доли X объема образца, согласно [2], имеет следующий вид:

$$X = 1 - \exp\left(-\frac{\pi}{3} r_k^3 J_{\text{ст}} \tau\right), \quad (2)$$

где r_k — радиус критического зародыша, $J_{\text{ст}}$ — стационарная частота зародышеобразования. Радиус критического зародыша определяется соотношением [1]:

$$r_k = \frac{2\sigma T_{\text{пл}}}{H_{\text{пл}} \Delta T}, \quad (3)$$

где σ — межфазная энергия границы раздела кристалл-расплав, $H_{\text{пл}}$ и $T_{\text{пл}}$ — скрытая теплота и температура плавления соответственно, ΔT — величина переохлаждения.

Стационарная частота зародышеобразования определяется уравнением [1]:

$$J_{\text{ст}} = K \exp\left(\frac{W_* + E}{k_B T}\right), \quad (4)$$

где K — кинетический коэффициент гомогенного зародышеобразования ($K = 10^{31} - 10^{33} \text{ с}^{-1} \text{ см}^{-3}$), W_* — работа образования критического зародыша, определяется уравнением [2]:

$$W_* = \frac{16\pi}{3} \frac{\sigma^3 T_{\text{пл}}^2}{(H_{\text{пл}} \Delta T)^2}.$$

Зависимость энергии активации E , согласно [3], имеет следующий вид:

$$E = k_B T \ln\left(\frac{\eta v}{h N_A}\right),$$

где k_B — постоянная Больцмана, T — температура, η — вязкость раствора, v — объем моля раствора, h — постоянная Планка, N_A — число Авогадро.

Полученные на основании расчета минимальные значения скоростей охлаждения, приводящих к стеклованию растворов глицерина с концентрацией 10, 20, 30, 40 и 50 % соответственно равны: $4,5 \cdot 10^7$, $6,8 \cdot 10^6$, $6,2 \cdot 10^5$, $3,1 \cdot 10^4$ и $5 \cdot 10^2 \text{ град} \cdot \text{с}^{-1}$.

Изучение кристаллообразования в водных растворах глицерина с помощью электронномикроскопического метода замораживания-скалывания подтверждает данные, полученные при расчете.

Экспериментально показано, что в водных растворах глицерина концентраций до 50 % наблюдается образование кристаллических структур при скоростях охлаждения $4 \div 5 \cdot 10^2 \text{ град} \cdot \text{с}^{-1}$.

1. Кидяров Б. И. Кинетика образования кристаллов из жидкой фазы. — Новосибирск: Наука, 1979. — 134 с.
2. Скрипов В. П., Коверда В. П. Спонтанная кристаллизация переохлаждения жидкостей. — М.: Наука, 1984. — 232 с.
3. Тоскано В. Н., Кравало Е. Г., Силварес О. М., Хаггинс К. Е. Термодинамика образования внутриклеточного льда при замораживании эритроцитов // Теплопередача. — 1975. — 97, № 3. — С. 6—13.
4. Robards A. W. Ultrastructural methods for looking at frozen cells // Sci. Prog. — 1974, 61, N 1, — P. 1—40.
5. Skaer H. B. Chemical cryoprotection for structural studies // J. Micros. — 1981. — 125, N 2. — P. 137—147.

Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
г. Харьков

Поступило 15.04.85.

С 15 по 18 октября 1985 года во Львове проходил II Всесоюзный съезд гематологов и трансфузиологов. В его работе принимали участие ученые и врачи из многих городов Советского Союза, а также из Болгарии, Венгрии, Югославии, Румынии, Польши ГДР и Вьетнама. Были обобщены результаты научных исследований по основным разделам современной гематологии и трансфузиологии: новые научно-организационные принципы работы и перспективы развития службы крови и специализированной гематологической помощи, консервирование крови, костного мозга и миелотрансплантация, кровезаменители и препараты крови, новое в гематологии и трансфузиологии.

В докладе первого заместителя министра здравоохранения СССР Е. И. Воробьева освещался вопрос о состоянии и перспективах развития трансфузиологической и гематологической помощи в стране. Подчеркивалось, что в настоящее время успешно развиваются новые направления в клинической трансфузиологии: гравитационная хирургия крови, управляемая гемокоррекция, применение иммунных препаратов крови. Интенсивно ведутся работы по созданию кровезаменителя — переносчика кислорода, оригинальных лечебных препаратов для коррекции гемостаза, агрегатного состояния крови, для парентерального питания.

На пленарном заседании в докладе академика АМН СССР О. К. Гаврилова отмечалось, что в последние годы достигнуты существенные успехи в разработке проблемы трансфузиологии, что позволяет удовлетворять потребность лечебных учреждений страны в цельной крови, ее компонентах, препаратах и кровезаменителях. Разработаны эффективные методы консервирования крови, длительного хранения эритроцитов и костного мозга в замороженном состоянии при ультранизких температурах.

Большое внимание на съезде было уделено вопросам разработки кровезаменителей и препаратов крови. В ЦНИИ гематологии и переливания крови разработан кровезаменитель, обладающий способностью к переносу кислорода и углекислого газа, на основе эмульсии перфторорганических соединений. Применение эмульсии перфторорганических соединений совместно с донорским альбумином или отдельно с полиглюкином обеспечивает восстановление показателей гемодинамики, нарушенных в результате смертельной кровопотери.

В последнее десятилетие успешно разрабатывается новое направление — создание препаратов полифункциональных кровезаменителей. Полиглюсол предназначен для лечения различных видов шока и острой кровопотери, сопровождающихся тканевым ацидозом. Изучение лечебной эффективности полиглюсола показало, что препарат обладает широким спектром лечебного действия: нормализует системную гемодинамику и реологию крови, восстанавливает показатели кислотно-щелочного равновесия, нормализует электролитный баланс.

Одной из актуальных проблем, обсуждавшихся на съезде, была проблема консервирования крови и костного мозга. В докладе докт. мед. наук Ю. С. Суханова (ЦНИИГПК) отмечалось, что значительные достижения имеются в области криоконсервирования эритроцитов для клинического применения. Внедрению метода криоконсервирования клеток крови будет также способствовать разработка методов медленного замораживания в электрических рефрижераторах при температуре от -30 до -100 °C, дальнейшее совершенствование других методов и разработка новой аппаратуры для консервирования клеток при ультранизких температурах.

Член-корреспондент АН УССР С. С. Лаврик в своем докладе отметил, что в Киевском НИИГПК разработан метод криоконсервирования клеток костного мозга при низких температурах (-85 °C). В качестве основного криопротектора применен низкомолекулярный поливинилпирролидон с конечной концентрацией 10 %. Результаты проведенных исследований показали высокий процент сохранности стволовых гемопоэтических клеток.

В докладах профессора В. А. Аграненко было подчеркнуто, что важной задачей является создание не только ресуспендирующего, но одновременно и консервирующего раствора для эритроконцентрата, дающего возможность длительные сроки сохранять его функциональные и реологические свойства. Заслуживает особого внимания разработанная методика биохимической модификации консервированных эритроцитов, которая позволяет восстанавливать («омолаживать») утраченную их полноценность после длительного хранения цельной крови или эритроцитарной массы.

В докладе профессора Б. В. Качоровского (НИИГПК, г. Львов) были представлены данные о влиянии гипероксигенации на белковый состав консервированной крови различных сроков хранения. Гипероксигенация под повышенным давлением не влияет на белковый состав консервированной крови различных сроков хранения, а переливание оксигенированной крови положительно влияет на кислородную обеспеченность организма. Учитывая актуальность и высокую эффективность применяемой в лечебной практике гипероксигенированной крови, предложен способ оксигенации крови различных сроков хранения с помощью универсального портативного аппарата оксигенации.

На заседании секции «Консервирование крови и ее компонентов» в докладе профессора А. М. Белоуса (Институт проблем криобиологии и криомедицины АН УССР, г. Харьков) были рассмотрены новые подходы к направленной модификации структурно-осмотического состояния эритроцитов с целью повышения их устойчивости к низкотемпературному консервированию. Представлены данные о механизме холодо-

вой структурно-осмотической адаптации с учетом роли фазовых перестроек компонентов мембраны, значения холестерина и состояния воды, а также цитоскелета, регулирующих форму и барьерные свойства клеток.

В докладе профессора А. А. Цуцаевой (ИПКиК АН УССР, г. Харьков) были представлены данные, касающиеся оценки морфофункционального состояния кроветворных клеток костного мозга и лимфоцитов лимфоидных органов после криоконсервирования (-196°C) под защитой криопротектора ПЭО-400. Отмечено, что при переводе клеток в состояние холодового анабиоза под действием физико-химических факторов в них развиваются нелетальные повреждения, репарируемые в течение определенного промежутка времени, но оказывающие влияние на функциональное состояние клеток. В докладе рассмотрен вопрос о зависимости эффективности криоконсервирования кроветворных клеток от их исходного состояния.

В ЦНИИГПК разработаны методы криоконсервирования тромбоцитов и лейкоцитов с растворами «Тромбокриодмац» и «Лейкокриодмац» для долгосрочного их хранения в замороженном состоянии. Предварительное клиническое изучение этих методов показало их эффективность в комплексном лечении больных с тромбо- и лейкоцитопенией, осложненных инфекцией и геморрагическим синдромом.

Л. А. Бабийчук

В Махачкале на базе Дагестанского государственного университета им. В. И. Ленина 19 и 20 сентября 1985 г. проходил Всесоюзный симпозиум по вопросам обмена веществ при зимней спячке и естественном сне. В совещании приняли участие ученые из Москвы, Ленинграда, Каунаса, Еревана, Новосибирска, Харькова, Махачкалы и других городов страны. В общей сложности было представлено и обсуждено 45 докладов, касавшихся метаболизма тканей животных при зимней спячке в филогенезе, биохимических изменений в органах и тканях различных видов животных при искусственном гипобиозе и гипотермии, а также при естественном сне.

С пленарным докладом «Новые данные о метаболизме нейромедиаторных аминокислот при зимней спячке» выступил профессор Э. З. Эмирбеков (г. Махачкала). О состоянии серотониновых рецепторов в мозге у сусликов при зимней спячке и пробуждении говорилось в выступлении профессора Н. К. Поповой (г. Новосибирск). Ряд докладов представили сотрудники Института проблем криобиологии и криомедицины АН УССР (г. Харьков), в которых обсуждались клеточные и молекулярные механизмы зимней спячки и гипотермии.

На основании представленных на симпозиуме материалов можно сделать вывод о том, что внимание ученых главным образом направлено на решение проблемы управляемого охлаждения гомойотермных животных: детальное исследование нейромедиаторных процессов при естественной и искусственной гипотермии, изучение рецепции и действия нейропептидов в различных тканях; выделение, идентификацию и очистку нейропептида-триггера зимней спячки; глубокое исследование молекулярных механизмов регуляции основных метаболических процессов в клетках в условиях естественной и искусственной гипотермии. Очень важным является также сравнительное изучение механизмов природной адаптации (на примере холоднокровных и зимоспящих животных) и причин повреждения (или устойчивости) клеток теплокровных животных в условиях низких температур. На симпозиуме подчеркивалось, что основной задачей, стоящей перед учеными, является дальнейшее развитие комплексных исследований по проблеме: зимняя спячка и искусственная гипотермия. Принято решение следующий симпозиум провести в 1988 г. на базе Сибирского отделения АН СССР в Новосибирске.

Э. З. Эмирбеков

УДК 615.832.9 : 616.127—005.8

Содержание простагландинов в крови животных с экспериментальным инфарктом миокарда при краниocereбральной гипотермии / Малая Л. Т., Бабийчук Г. А., Власенко М. А., Чижевская И. В. // Криобиология.— 1986.— № 2.— С. 3—7.

В работе представлены результаты изучения влияния краниocereбральной гипотермии на содержание простагландинов и циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в крови животных с экспериментальным инфарктом миокарда. Показано, что инфаркт миокарда сопровождается увеличенным освобождением простагландинов и цАМФ. Краниocereбральная гипотермия в значительной мере модифицирует высвобождение нуклеотида и простагландинов, приводя к преимущественному накоплению простагландина Е, обладающего кардиозащитным действием.

Табл. 3. Библиогр.: 6 назв.

УДК 542.27.01.611.441

Биохимические показатели функции тиреоидной ткани при криоконсервации / Туракулов Я. Х., Мухамедзянова И. Р., Исмаилов С. И., Ташходжаева Т. П. // Криобиология.— 1986.— № 2.— С. 7—10.

Представлены результаты исследования способности срезов щитовидной железы, полученной от больных диффузно-токсическим зобом и подвергнутой криоконсервации и реконсервации, к поглощению ^{14}C — глицина, ^{131}I и образованию йодированных соединений. После криоконсервации и реконсервации достоверно снижается поглощение ^{14}C — глицина и изменяется процентное соотношение йодистых компонентов в срезах щитовидных желез, указывающее на снижение интенсивности гормонообразования; активность поглощения йода не изменяется и сохраняется способность к биосинтезу белка и образованию тиреоидных гормонов *de novo*.

Табл. 3. Библиогр.: 8 назв.

УДК 57.043:615.373.014.41

Длительное хранение противостолбнячных сывороток в жидком азоте / Цуцаева А. А., Маркова В. М., Хайкин Р. К., Юрченко Г. Г., Рындин В. Ф. // Криобиология.— 1986.— № 2.— С. 10—14.

Установлена разная степень криостабильности высоко- и низкотитровых сывороток. Установлено, что в сыворотках, хранившихся при температуре 4 °С, ежегодное снижение титра достигает 10,4 %. В то же время максимальное снижение титра в сыворотках, хранившихся в жидком азоте под защитой 5 % ПЭО-400, за 9 лет составило лишь 4,2 %. При консервации сыворотки под защитой 10—15 % ПЭО-400 исходный титр не снижался в течение всего срока хранения — 9 лет. Температура хранения (4 °С, —196 °С) оказывает существенное влияние на полноту связывания токсина с антитоксином. Условия хранения не оказывают влияния на пирогенность, безвредность, стерильность и pH сывороток.

Табл. 3. Библиогр.: 4 назв.

УДК 541.128

Влияние вязкости среды на скорость не диффузионно-контролируемых биохимических реакций / Осецкий А. И. // Криобиология.— 1986.— № 2.— С. 14—20.

В работе рассмотрены методы расчета константы скорости химических реакций, протекающих в конденсированных средах. Показано, что они не позволяют объективно описать экспериментально наблюдаемое влияние вязкости среды на активируемое химическое взаимодействие взвешенных в ней биомолекул. Предложен принципиально новый механизм влияния среды на процесс флуктуационного смещения молекулярных фрагментов. В рамках этого механизма реализуется экспоненциальная зависимость вероятности конформационных изменений биомолекул при катализе от вязкости среды.

Ил. 3. Библиогр.: 9 назв.

УДК 57.043:547.422

Биологическое и криозащитное действие 1,2-пропандиола / Лоевский М. М., Белоус А. М. // Криобиология. — 1986. — № 2. — С. 20—23.

Исследовали влияние 1,2-пропандиола на биообъекты *in vivo* и *in vitro*. На основании литературных данных и собственных экспериментальных результатов показано, что 1,2-пропандиол является малотоксичным соединением, которое легко метаболизирует в организме и эффективно предохраняет эритроциты при низкотемпературной консервации.

Табл. 1. Библиогр.: 5 назв.

УДК 577.37

О механизме осмотического лизиса эритроцитов / Гордиенко Е. А., Гордиенко О. И. // Криобиология. — 1986. — № 2. — С. 23—25.

В работе получено аналитическое выражение для среднего времени образования поры в мембране эритроцитов при различных значениях изотропного натяжения мембраны, которое удовлетворительно согласуется с данными экспериментов Рэнда. Это свидетельствует о том, что гемолиз эритроцитов в гипотонических условиях связан с образованием макроскопических пор в их мембранах.

Ил. 2. Библиогр.: 6 назв.

УДК 57:536.48.047.615.9.06

Воздействие оксиэтилированных полиолов на организм лабораторных животных / Верховская Л. З., Сигал Н. С., Карташов В. Ф., Гучок В. М., Мазалов В. К. // Криобиология. — 1986. — № 2. — С. 26—29.

Проведено комплексное токсико-фармакологическое исследование оксиэтильных производных глицерина (ОЭГ-312 и ОЭГ-1412) — не требующих отмывания криопротекторов — для низкотемпературного консервирования биологических объектов. В опытах на животных изучено влияние парентерально вводимых 5—60 %-ных растворов ОЭГ в дозах 1/40 — 1/2 ЛД-50 (0,33—8,0 г/кг) на функциональное состояние организма. Показано, что при многократном введении данных криопротекторов в дозах 1/10 и 1/20 ЛД-50 могут развиваться кратковременные преходящие изменения, выраженность которых зависит от концентрации вводимых веществ. Установлено отсутствие у ОЭГ кумулятивных свойств. Изученные вещества не обладают видовой специфичностью действия.

Библиогр.: 7 назв.

УДК 591.543.42

Исследование показателей углеводного метаболизма длиннохвостого суслика в период зимней спячки / Ануфриев А. И., Соломонова Т. Н., Васильев И. С., Данилова Л. С., Ахременко А. К. // Криобиология. — 1986. — № 2. — С. 29—31.

В статье приводятся результаты исследования ряда физиолого-биохимических показателей метаболизма якутского длиннохвостого суслика в период зимней спячки. Отмечалось снижение темпов потери массы тела с изменением температуры тела, обнаружены изменения в бурой жировой ткани, а также изменения некоторых показателей углеводного обмена. Сделано заключение об интенсификации глюко-неогенеза и возможности синтеза аскорбиновой кислоты в период зимней спячки.

Ил. 1. Табл. 2. Библиогр.: 5 назв.

УДК 576.314.63.57.017.3

Структура межклеточных контактов в миокарде гетеротермных млекопитающих / Жегунов Г. Ф. // Криобиология. — 1986. — № 2. — С. 32—34.

Исследовали ультраструктуру межклеточных контактов в миокарде сусликов (*Cytellus undulatus*) в активном состоянии и при зимней спячке. Показано увеличение площади контакта клеток с соседними кардиомиоцитами и кровеносными сосудами. Отмечается увеличение толщины межклеточного базального слоя. О специфике обмена веществ зимоспящих свидетельствует наличие в примембранном пространстве кардиомиоцитов большого количества мембранных везикул, что наблюдается у активных животных в меньшей степени.

Ил. 4. Библиогр.: 5 назв.

Содержание гомокарнозина в мозге незимоспящих и зимоспящих животных при охлаждении / Ким Ен Рюл, Эмирбеков Э. З. // Криобиология. — 1986. — № 2. — С. 34—36.

Гипотермия крыс (20 °С) и сусликов (20 и 10 °С) сопровождается значительным снижением содержания гомокарнозина в больших полушариях мозга, среднем и промежуточном мозге (суммарно) и мозжечке. Снижение содержания гомокарнозина в отделах мозга при гипотермии происходит в обратной зависимости от регионального распределения количества дипептида в норме. Результаты позволяют предположить, что в условиях гипотермии гомокарнозин не выполняет роль тормозного нейромедиатора.

Табл. 1. Библиогр.: 7 назв.

Синтез ДНК в органных культурах кожи человека при криоконсервировании / Волкова Н. А., Хвостова С. Г., Сандомирский Б. П. // Криобиология. — 1986. — № 2. — С. 36—40.

Исследована способность фрагментов трупной кожи человека, взятой на этапах заготовки, эквilibрации с криозащитной средой и после оттаивания, к включению меченого предшественника синтеза ДНК ³Н-тимидина в условиях органокультуривирования. Использование насыщающей метки ³Н-тимидином при культивировании деконсервированных образцов кожи позволило получить пролиферацию только наиболее устойчивых элементов кожи — базальных эпидермоцитов волосяных фолликулов.

Ил. 3. Библиогр.: 9 назв.

Динамика кислородного режима тканей пародонта у больных пародонтитами в процессе комплексной терапии, включающей оксигенацию в условиях локальной гипотермии / Никитин В. А., Куцевляк В. Ф., Пурене А. Б. // Криобиология. — 1986. — № 2. — С. 40—42.

С целью изучения кислородного режима в тканях пародонта при диагностике и оценке эффективности комплексной терапии с применением оксигенации в условиях локальной гипотермии, определены параметры кислородного режима тканей у 64 больных, обследованных дважды — до лечения и после проведенного курса лечения. При легкой форме генерализованного пародонтита, когда гипоксия обусловлена функциональными изменениями в системе регионарной гемодинамики, комплексная терапия с включением оксигенации способствует нормализации параметров кислородного режима в 92 % случаев, при средней и тяжелой форме — в 72 %.

Библиогр.: 4 назв.

Лечение рецидивирующих эпителиальных дисплазий шейки матки криовоздействием / Миляновский А. И., Гординенко В. М., Муськин Ю. Н., Сенчук А. Я., Жарков Я. В. // Криобиология. — 1986. — № 2. — С. 42—44.

Методом криовоздействия (быстрое охлаждение и медленное оттаивание) лечили 460 женщин с рецидивирующими эпителиальными дисплазиями шейки матки. Показана эффективность криохирургического лечения данной патологии.

Ил. 2. Библиогр.: 6 назв.

Криогенные инструменты и аппараты для стереотаксической нейрохирургии / Муринец-Маркевич Б. Н., Красников А. Р., Замошников В. Н., Кузнецова Н. В., Шнее С. Н. // Криобиология. — 1986. — № 2. — С. 44—47.

Для расширения области применения криогенного метода лечения в нейрохирургии разработаны специальные криозонды и стереотаксический аппарат, обеспечивающие высокую точность попадания и удобный доступ к операционному полю. Клиническими испытаниями установлено, что новые криохирургические инструменты и стереотаксический аппарат весьма эффективны при лечении ряда заболеваний центральной нервной системы: эпилепсии, паркинсонизма, болевых синдромов, а также при разрушении внутримозговых опухолей.

Ил. 2. Библиогр.: 2 назв.

The content of prostaglandines in blood of animals with experimental myocardial infarction subjected to craniocerebral hypothermia / Malaya L. T., Babiychuk G. A., Vlasenko M. A., Chizhevskaya I. V. // *Kriobiologiya*.— 1986.— N 2.— P. 3—7.

The effect of craniocerebral hypothermia on the content of prostaglandines and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in blood of animals with experimental myocardium infarction was studied. The myocardial infarction has been shown to be accompanied by an increase in releasing prostaglandines and cAMP. Craniocerebral hypothermia appeared to change significantly the leakage of both the nucleotide and prostaglandines, as a result prostaglandine E which exerted a protective effect on heart was preferentially accumulated.

3 tables. Refs.: 6 titles

Biochemical indices of thyroid function upon cryopreservation / Turakulov Ya. X., Mukhamedzyanova I. R., Ismailov S. I., Tashkhodzhaeva T. P. // *Kriobiologiya*.— 1986.— N 2.— P. 7—10.

The ability of frozen-thawed thyroid slices taken from patients with diffuse toxic goiter to uptake ^{14}C -glycine and ^{131}I and to form iodine compounds was studied. Cryopreservation did not change the ability of thyroid parenchyma for iodine fixation and the qualitative content of iodine amino acids. After freeze-thawing the uptake of ^{14}C -glycine in thyroid slices was shown to decrease definitely along with changing the percentage of iodine components which indicated decreasing the intensity of hormone formation. It has been concluded that the efficiency of iodine uptake remains unchanged and the capability for protein biosynthesis as well as thyroid hormone formation *de novo* is preserved in frozen-thawed thyroid tissue.

3 tables. Refs.: 8 titles

Long-term storage of antitetanic sera in liquid nitrogen / Tsutsayeva A. A., Markova V. M., Haykin R. K., Yurchenko G. G., Ryndin V. F. // *Kriobiologiya*.— 1986.— N 2.— P. 10—14.

Cryostability of high and low titer sera appeared to be different. It has been found that annual reduction of titer in sera stored at 4°C reached 10,4 %. The maximum titer reduction in sera stored in liquid nitrogen with 5 % PEO-400 for 9 years was 4,2 %. The titer remained unchanged in sera cryopreserved with 10 to 15 % PEO-400 during storage for 9 years. The storage temperature (4 to -196°C) affected binding between toxin and antitoxin. The storage conditions did not affect pyrogenic and innocuous properties as well as sterility and pH of sera.

3 tables. Refs.: 4 titles

The effect of viscosity on the rate of non-diffusively controlled biochemical reactions / Osetsky A. I. // *Kriobiologiya*.— 1986.— N 2.— P. 14—20.

Methods for calculation of constant rates of chemical reactions which proceed in condensed media failed to describe properly the effect of medium viscosity on activated chemical interactions between suspended biomolecules observed in the experiment. A new mechanism of action of media on the fluctuation shift in molecular components is proposed. According to the mechanism, the exponential dependence of probability of conformational changes in biomolecules during catalysis on the medium tonicity is realized.

3 figs. Refs.: 9 titles

The biological and cryoprotective effect of 1,2-propanediol / Loyevsky M. M., Belous A. M. // *Kriobiologiya*.— 1986.— N 2.— P. 20—23.

The effect of 1,2-propanediol on biological systems *in vivo* and *in vitro* was studied. Literature data and our own experimental results showed 1,2-propanediol to be a compound of low toxicity which readily metabolizes and protects erythrocytes upon cryopreservation.

1 table. Refs.: 5 titles

UDC 577.37

On the mechanism of osmotic lysis in erythrocytes / Gordiyenko E. A., Gordiyenko O. I. // Kriobiologiya.— 1986.— N 2.— P. 23—25.

An analytical expression for the average time of pore formation in erythrocyte membranes at various values of isotropic tension is presented, being in agreement with Rand's results. It has been concluded that haemolysis of erythrocytes under hypotonic conditions is due to macroscopic pores formed in their membranes.

2 figs. Refs.: 6 titles

UDC 57:536.48.047.615.9.06

The effect of cryoprotectants hydroxyethylated polyols on experimental animals / Verkhovskaya L. Z., Sigal N. S., Kartashov V. F., Guchok V. M., Mazalov V. K. // Kriobiologiya.— 1986.— N 2.— P. 26—29.

A complex toxico-pharmacologic study of glycerol hydroxyethylated derivatives (HEG-312 and HEG-1412) which do not require removal was carried out for low temperature preservation of biological systems. Parenteral administrations of 5 to 60 % HEG solutions in doses of 1/40 to 1/2 of LD-50 (0.33 to 8.0 g/kg body weight) were made into cats, rabbits, white rats and mice. Hepatic and renal functions, indices of peripheral blood and coagulability, the state of cardiovascular and respiratory systems were examined. A threshold magnitude of the HEG damaging effect has been determined. Repeated administrations of the cryoprotectants in doses 1/10 and 1/20 of LD-50 induced concentration dependent transient changes which looked like a primary decompensation. HEGs did not seem to be accumulated in the body of animals and exert a specific action.

Refs.: 7 titles

UDC 591.543.42

The investigation of metabolic indices of hibernating long-tailed ground squirrels / Anufriyev A. I., Solomonova T. N., Vasilyev I. S., Danilova L. S., Akhremenko A. K. // Kriobiologiya.— 1986.— N 2.— P. 29—31.

Physiologic and biochemical changes in hibernating long-tailed ground squirrels were examined. A decreased loss of body weight with temperature lowering, changes in brown fatty tissue and carbohydrate metabolism were observed. A conclusion has been made about intensification of gluconeogenesis and a possibility of ascorbic acid synthesis during hibernation.

1 fig. 2 tables. Refs.: 5 titles

UDC 576.314.63.57.017.3

The structure of intercellular contacts in myocardium of heterothermal animals / Zhegunov G. F. // Kriobiologiya.— 1986.— N 2.— P. 32—31.

The ultrastructure of intercellular contacts in myocardium of ground squirrels (*Citellus undulatus*) in active state and during hibernation was studied. An increase in the contact area of cells with adjacent cardiomyocytes and blood vessels was observed along with increasing the thickness of the intercellular basal layer. An increased number of vesicles in the near-membrane area of cardiomyocytes as compared to those of active animals indicated a specific character of metabolism in hibernating animals.

4 figs. Refs.: 5 titles

UDC 612.822.1:612.57

The content of homocarnosine in brain of non-hibernators and hibernators upon cooling / Kim En Rul, Emirbekov E. Z. // Kriobiologiya.— 1986.— N 2.— P. 34—36.

Hypothermia of rats (20 °C) and ground squirrels (20 and 10 °C) was shown to be accompanied by a marked decrease of the homocarnosine content in the cerebral hemispheres, midbrain, diencephalon and cerebellum. The content of homocarnosine varied with normal quantitative dipeptide distribution. Homocarnosine does not seem to play a role of inhibitory neuromediator under hypothermia.

1 table. Refs.: 7 titles

UDC 57.043:611.77.085.23.549.963.32

DNA synthesis in organ cultures of cryopreserved human skin / Volkova N. A., Khvostova S. G., Sandomirsky B. P. // Kriobiologiya.— 1986.— N 2.— P. 36—40.

The ability of cadaver skin pieces taken upon preparation, equilibration with a cryoprotective medium and after thawing to incorporate a labeled precursor of DNA synthesis ³H-thymidine in organ cultures was studied. Exposure of cadaver skin pieces to a cryoprotective medium containing 15 % PEO-400 for 3 hr appeared to inhibit markedly the incorporation of ³H-thymidine into processes of epidermocyte proliferation. Using ³H-thymidine labels in cultures of thawed skin samples revealed proliferation of only the most stable skin components, namely basal epidermocytes of hairy folliculi.

3 figs. Refs.: 9 titles

UDC 616.314.17—008:616.089.583.29+615.835.3

Dynamics of oxygen regimen in parodontium tissues of patients with parodontitis treated using oxygeation under local hypothermia / Nikitin V. A., Kutsevlyak V. F., Purene A.B. // Kriobiologiya.— 1986.— N 2.— P. 40—42.

To investigate the oxygen regimen in parodontium tissues when diagnosing and evaluating the efficiency of complex therapy including oxygenation under local hypothermia the oxygen regimen parameters were determined in 64 patients before and after treatment. In patients with parodontal diseases a reliable decrease in the parameters under study was observed. In cases of mild generalized parodontitis when hypoxia was induced by functional changes in the system of regional hemodynamics the complex therapy including oxygenation promoted normalization of the oxygen regimen parameters in 92 % patients and in 72 % patients with medium and grave forms of the disease.

Refs.: 4 titles

UDC 57.043

A method of treating repeated epithelial displasia of cervix uteri with cryoapplication / Milyanovsky A. I., Gordiyenko V. M., Muskin Yu. N., Senchuk A. Ya., Zharkov Ya. V. // Kriobiologiya.— 1986.— N 1.— P. 42—44.

Repeated epithelial displasia of cervix uteri was treated in 460 patients using a method of cryoapplication (rapid cooling and slow thawing). The efficiency of cryosurgical management of the disease has been shown.

2 figs. Refs.: 6 titles

UDC 515.472:616.831—089.2:615:832.97/98

Cryogenic instruments and apparatus for stereotaxic neurosurgery / Murinets-Markevich B.N., Krasnikov A. P., Zamoshnikov V. N., Kuznetsova N. V., Shnee S. N. // Kriobiologiya.— 1986.— N 2.— P. 44—47.

The results of clinical studies show that new cryosurgical instruments and stereotaxic apparatus are more convenient in handling for treating various disorders of the central nervous system and provide high accuracy of introduction of a surgical instrument into a preset point of medulla.

2 figs. Refs.: 2 titles

Цена 65 к.

Индекс 70474

Журнал „Криобиология“, № 2, 1986 г.
Издательство „Наукова думка“, г. Киев