

Е. П. СТЕПАНЯН, М. А. ФРОЛОВА, Е. И. ЯРЛЫКОВА, Р. Г. ГУДКОВА

### ИЗМЕНЕНИЕ ГЛЮКОЗАМИНА И АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ ТКАНИ КЛАПАНОВ СЕРДЦА ПРИ КОНСЕРВИРОВАНИИ РАСТВОРОМ ФОРМАЛИНА

В последние годы при хирургическом лечении ревматически пораженного клапанного аппарата используют биологические протезы—ксеногенные клапаны, позволяющие избежать целого ряда послеоперационных осложнений [6]. В то же время применение ксеногенных трансплантатов ставит новые проблемы, одной из которых является разработка и оценка наиболее эффективного метода их консервации.

Полагают, что оптимальный способ обработки ксеноклапанов должен отвечать целому ряду требований, среди которых особое значение придается сохранению прочности тканевых структур и уменьшению их антигенной активности.

В настоящее время одним из используемых в клинической практике методов консервации является обработка биологических трансплантатов 4% раствором формальдегида в ацетатном буфере—рН—5,6 [7]. Влияние этого раствора на сенсибилизирующие и иммуногенные свойства тканей свиных формализированных клапанов уже изучено [5], в то время как характер воздействия его на содержание в тканях мукополисахаридов остается пока неясным.

Учитывая это, мы провели параллельное изучение влияния 4% забуференного раствора формалина как на содержание в клапанах общего количества мукополисахаридов, так и на антигенные свойства тканей клапанов. В связи с этим, с одной стороны, изучалось содержание мукополисахаридов и общего азота в составных элементах клапанов сердца свиньи (створка, аорта, мышца, прилегающая к фиброзному кольцу), а с другой—эти данные сопоставлялись с антигенностью тканей в зависимости от срока консервации клапанов в забуференном растворе формальдегида.

*Материал и методы исследования.* Суммарное содержание мукополисахаридов и общее содержание азота определяли в одних и тех же образцах частей клапанов: нативных, хранившихся в формалине в течение 3 недель и 3 месяцев. Определение мукополисахаридов проводили по методу Элсон в модификации Меркурьевой Р. В. по глюкозамину, общего азота—по Кьельдалю [3].

Водно-солевые экстракты готовили из лиофилизированных элементов клапанов, объединив предварительно образцы, незначительно отличающиеся по содержанию мукополисахаридов. Количественное определение белка в экстрактах производили по методу Лоури.

Антигенный состав экстрактов изучали в реакциях преципитации в геле с антисыворотками к экстрактам клапанов. Аллергенные свойства экстрактов определяли методом анафилаксии на морских свинках по ранее описанной схеме [5]. Опыты поставлены на 28 животных.

**Результаты исследования.** Изучение отдельных образцов экстрактов ткани аорты, створок и мышцы нативных клапанов сердца свиньи выявило, что количество глюкозамина в исследуемых навесках составляло в среднем 116 мг/0,1 мг азота в аорте, 96 мг/0,1 мг азота—в створках, в мышце у основания клапана 113 мг/0,1 мг азота ткани.

Выход белков в водно-солевой раствор был достаточно равномерным и равнялся  $1284 \pm 0,280$  мкг/мл, независимо от типа ткани. Аналогичные данные получены при определении содержания азотистых веществ— $0,061 \pm 0,010$  мг/10 мг ткани. В реакции преципитации в геле было установлено, что экстракты аорты образовывали с антисывороткой к антигенам нативного клапана 3—4 полосы преципитации, в тех же условиях экстракты створок и мышц формировали, как правило, по одной полосе.

Консервация фрагментов клапана в формалине в течение 3 недель приводила в среднем к некоторому увеличению глюкозамина ( $P > 0,05$ ). При этом наблюдалось резкое уменьшение (в 8—10 раз) концентрации белка в экстрактах в среднем  $0,131 \pm 0,090$  мг/мл. Эти данные коррелировали с иммунологической активностью образцов, антигенный состав которых в реакции преципитации в геле не выявлялся.

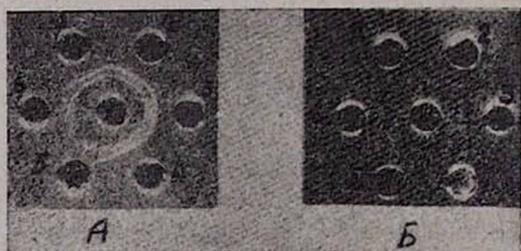


Рис. 1. Антигенный состав тканей клапанов /реакция преципитации в геле/. В центре—антисыворотка к антигенам нативных клапанов. По периферии: А—экстракты из ткани нативной аорты /лунки 1—4/, из мышечной ткани /лунка 5/, из ткани створок /лунка 6/; Б—экстракты из тканей аорты, мышцы створок, консервированных в формалине в течение 3-х недель /лунка 1, 2, 3/, лунки 4—6—экстракты тех же тканей, консервированных 3 месяца.

Удлинение сроков консервации до 3 месяцев приводило к существенным изменениям количества глюкозамина, которое значительно возросло по сравнению с нормой.

Параллельное определение консервации белка в экстрактах в этот срок не выявило достаточного изменения этого показателя по сравнению с 3-недельной консервацией ( $0,124 \pm 0,045$  мг/мл.). Это совпадает с

данными других исследователей [8], выявивших прогрессивное уменьшение водорастворимых белков в тканях в течение первых 2 недель консервации с последующим сохранением их остаточного количества. По иммунологическим свойствам фрагменты клапанов после 3-месячного консервирования не отличались от образцов, обработанных формалином в течение 3 недель.

Содержание общего азота оставалось стабильным независимо от длительности хранения клапанов в формальдегиде.

Анализ результатов проведенных исследований, естественно, ставит вопрос об источнике увеличения содержания глюкозамина, наступающего по мере хранения биологических трансплантатов в 4% растворе формальдегида. Тем более, что в данных условиях совершенно исключается возможность увеличения глюкозамина за счет усиления тканевого метаболизма в соединительнотканых элементах ксеноклапанов. Можно лишь предположить, что обработка 4% раствором формальдегида приводит к более глубоким структурным изменениям и освобождению глюкозамина из сложных биоконплексов, которыми могут быть, помимо мукополисахаридов, и другие белковые соединения.

При использовании экстрактов составных частей клапанов, обработанных формалином, оказалось, что они полностью инертны в реакции преципитации. Полученные результаты нельзя объяснить малой концентрацией белков, так как экстракты нативных клапанов, соответственно уравненные по белку с формалинизированными, давали характерные линии преципитации. Это объясняют тем [4], что формальдегид вызывает маскировку антигенных детерминант, ведущую к потере антигенной активности экстрактов. Однако при введении экстрактов в организм кроликов происходит частичное восстановление их иммуногенной активности, приводящее к выработке антител.

Эти данные подтвердились в опытах с анафилактией на морских свинках. Для сенсibilизации были использованы экстракты нативных клапанов и смесь экстрактов из формалинизированных частей клапана, объединенных вследствие малого количества каждого из них. Так как в предыдущих исследованиях нами было показано, что срок консервации (3 недели и 3 месяца) не влияет на биологическую активность экстрактов, в данной работе мы не учитывали срок консервации.

Экстракты нативных и обработанных клапанов вызывали сенсibilизацию животных в одинаковой степени: при введении разрешающей дозы экстракта нативных клапанов тяжесть анафилактического шока в обеих группах была 3,8. В то же время использование экстракта формалинизированных клапанов для разрешения выявило достоверно уменьшенную шокогенную активность его: анафилактический индекс равнялся 2,5.

Таким образом, обработка тканей клапана 4% раствором формальдегида в ацетатном буфере приводит к достоверному увеличению со-

держания глюкозамина к 3 месяцам консервации, к связыванию водорастворимых белков и уменьшению антигенной активности экстрактов клапанов в реакциях *in vivo* и *in vitro*.

Ин-т сердечно-сосудистой  
хирургии им. А. Н. Бакулева  
г. Москва

Поступило 16/XI 1973 г.

Ե. Պ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Մ. Ա. ՖՐՈՂՈՎԱ, Ե. Ի. ՅԱՐԼՅԿՈՎԱ, Ռ. Գ. ԳՈՒԿՈՎԱ

ՄՐՏԻ ԿԱՓՈՒՅՐԻ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔԻ ԱՆՏԻԳԵՆԱՅԻՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԵՎ  
ԳԼՅՈՒԿՈՋՈԱՄԻՆԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ՖՈՐՄԱԼԻՆԻ ԼՈՒՄՈՒՅԹՈՎ  
ԿՈՆՍԵՐՎԱՑՆԵԼՈՒ ԴԵՊՔՈՒՄ

### Ա մ փ ո ւ լ մ

Ստացված արդյունքները թույլ են տալիս ենթադրելու, որ հյուսվածքային մշակումը ֆորմալինի 4 տոկոսանոց լուծույթով առաջ է բերում կենսաբանական կառուցվածքների բարդ փոփոխություններ և մասնավորապես մուկոպոլիսախարիդների: Դրանց «դենատուրացիան» հասցնում է գեքսոզամինների ազատմանը և զուգահեռաբար նրանց անտիգենային և անաֆիլակտիկական հատկությունների նվազմանը:

E. P. STEPANIAN, M. A. FROLOVA, E. I. YARLYKOVA, P. G. GUDKOVA  
CHANGE OF GLUCOSEAMINE AND ANTIGENIC PROPERTIES OF  
HEART VALVE'S TISSUE DURING CONSERVATION  
BY FORMALIN LIQUID

### S u m m a r y

The data obtained allow to suggest that tissue treatment by 4% formalin liquid causes complex changes of biological structure and, in particular, of mucopolisaharids. Their „denaturation“ calls to the release of hexasamines and parallelly to the decrease of antigenic and antifilactic properties.

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Меркурьева Р. В. Дисс. канд. биол. наук, М., 1963.
2. Мондрус К. А. В кн.: «Проблемы гомопластики и аллопластики». 1967.
3. Розенберг, Бялко. Химические методы исследования биологических субстратов в профпатологии, М., 1969.
4. Соловьев Г. М. с соавт. В кн.: «Иммунологические аспекты трансплантации». М., 1971, 5.
5. Фролова М. А. с соавт. Бюллетень эксперим. биол. и медиц. 6. Цукерман Г. И. с соавт. Эксперим. хирургия и анестезиология. 1971, 4, 13—17.
7. O'Brien M. F. J. Thor. Cardiovasc. surg., 1967, 53, 392.
8. Фейгельман С. С. с соавт. Бюллетень эксперим. биол. и медиц. 1971, 1, 58.