

Е. В. БУРЛАКОВА, Э. А. КАРАГУЛЯН, О. Р. КОЛЬС

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЫШЦ ПРИ ГЛУБОКОМ ОХЛАЖДЕНИИ

В ранее опубликованных работах [1, 2] нами описано исследование методом электропроводности тканей, консервированных глубоким холодом.

Измерения в этих работах велись на установке, сконструированной по принципу мостовых схем. При этом сопротивление и емкость объекта компенсировались отдельно. Однако известно, что в зависимости от расположения объекта на электродах, влажности и т. д. измеряемые величины сопротивления и емкости могут значительно изменяться от замера к замеру. Для получения постоянно повторяющихся данных необходимо строгое соблюдение определенных условий опыта, как-то: постоянная площадь соприкосновения объекта с электродами, нормальная влажность и т. д. Иногда это бывает несколько затруднительно. Поэтому в опытах, где надо проследить динамику изменения электропроводности, целесообразно использовать такие параметры, которые относительно независимы от указанных условий.

Из физики известно, что в цепи переменного тока между R и C существует обратно пропорциональная зависимость, т. е.

$$RC = \text{const},$$

где RC — постоянная времени.

Подобная закономерность наблюдается на биологических объектах [4] (табл. 1).

С целью нивелирования колебаний сопротивления и емкости в настоящей работе нами рассчитывалась постоянная времени RC по измеренным отдельно сопротивлению и емкости.

В работе использовались мышцы *triceps surae* белых мышей. Постоянная времени RC определялась на свежесвыпрепарованных мышцах, на мышцах, оттаянных после замораживания жидким азотом (-196°C) и на мышцах, обработанных перед замораживанием защитной смесью (смесь раствора Эрла и глицерина). Замораживание и обработка защитной смесью проводились по общепринятой методике [4].

При расчете RC для свежесвыпрепарованной мышцы оказалось, что для одного и того же образца на одной частоте величина постоянной времени меняется лишь в пределах ошибки, несмотря на довольно большой разброс величин сопротивления и емкости. С повышением частоты RC уменьшается преимущественно за счет емкости (табл. 1).

Таблица 1

Значения постоянной времени на разных частотах в зависимости от положения на электродах

Положение на электродах №	Частота 0,5 кгц			Частота 1 кгц			Частота 5 кгц		
	R	C	RC	R	C	RC	R	C	RC
1	202	0,42	85	184	0,22	40	138	0,11	15,7
2	187	0,40	81	168	0,24	40	139	0,01	14,5
3	347	0,25	86	330	0,12	39	235	0,07	15,3
4	228	0,38	86	206	0,20	41	158	0,10	15,8
5	196	0,42	82	179	0,23	41	140	0,97	14,0
6	186	0,45	84	169	0,23	39	143	0,98	14,0
7	26	0,40	86	196	0,21	41	164	0,08	13,0
8	302	0,29	87	272	0,16	42	220	0,06	14,0

Установив, что для свежесыпрепарованных мышц наблюдалась хорошая повторность RC, независимо от колебаний сопротивления и емкости, мы использовали этот параметр для характеристики состояния

Таблица 2

Изменение значений постоянной времени при замораживании мышц без обработки и после обработки защитной смесью

Частота	Норма	Замораживание жидким азотом	Обработка защитной смесью	Замораживание после обработки защитной смесью
0,5	102	199	90	99,5
1	46	65	38,6	41,6
5	13	6,4	11	6,4
50	1,8	0,6	1,5	1,24
125	0,7	0,28	0,53	0,36
250	0,34	0,19	0,24	0,24
600	0,14	0,106	0,102	0,69

тканей, замороженных жидким азотом. Из табл. 2, где даны значения RC в широком диапазоне частот, видно, что при замораживании жидким азотом RC резко возрастает на низких частотах (0,5 кгц; 1 кгц); начиная с частоты 5 кгц и выше величина RC снижается относительно нормы.

У обработанных глицерином тканей постоянная времени незначительно снижается на всех частотах. Если замораживание жидким азотом производится после обработки тканей защитной смесью, на низких частотах RC остается близким к норме. На высоких частотах отмечается некоторое снижение RC, близкое к тому, которое наблюдается при действии глицерина без последующего замораживания.

На диаграмме (рис. 1) показаны изменения постоянной времени на частотах 0,5 кгц и 50 кгц, консервированных холодом без предварительной обработки, и мышц, консервированных после обработки защитной смесью. Величина RC свежесыпрепарованных мышц принята за 100%, изменения ее при консервации даны в процентах от нормы. Можно видеть, что при замораживании жидким азотом RC на низкой частоте

возрастает примерно на 195%. На высокой частоте наблюдается, напротив, падение RC.

Как было указано выше, обработка глицерином привела к некоторому снижению RC и на низкой и высокой частоте; почти такие же изменения RC происходят и у мышц, замороженных после обработки защитной смесью.

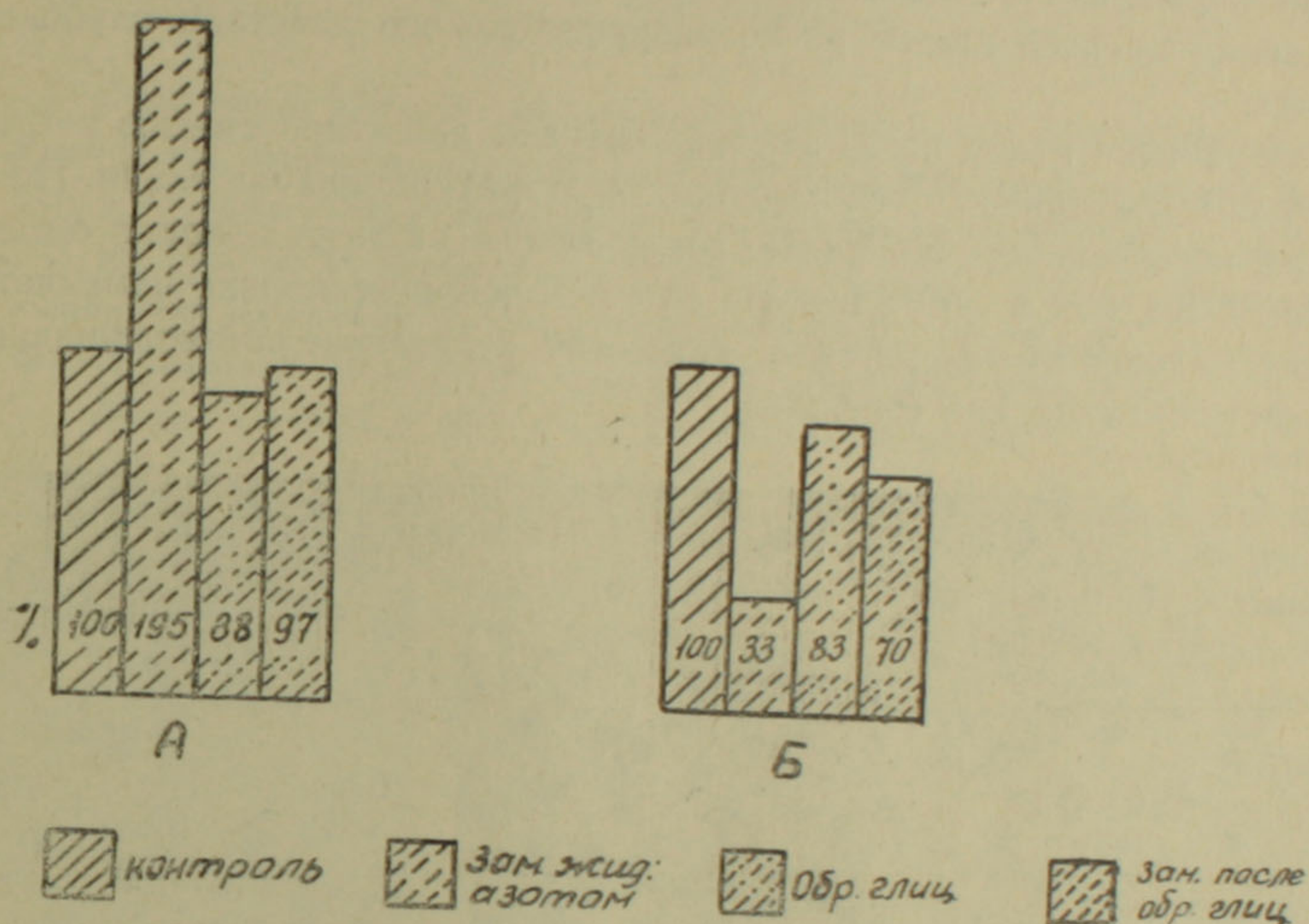


Рис. 1. Изменения постоянной времени мышц, консервированных холодом без обработки и после обработки защитной смесью на частотах 0,5 (А) и 50 (Б) кГц.

Как известно, в изменении электрических параметров живой ткани находят свое отражение нарушения жизненно-важных структур. Поэтому сопоставление данных, полученных методом электропроводности с гистологическими, представляет определенный интерес. В гистологической части работы мы использовали метод окраски ткани суданом черным. Применяя этот метод, мы стремились установить, нарушается ли при глубоком охлаждении фосфолипидный комплекс, определяющий в значительной мере физико-химическую структуру клеток.

Работа велась следующим порядком: фиксация тканей проводилась 10% раствором формалина в течение суток. Срезы изготавливались на замораживающем микротоме (толщина срезов 10—15 мк). Препараты окрашивались суданом черным и заключались в глицерин с желатиной. Фотографирование объекта производилось под микроскопом МБИ-2 с помощью насадки МФН при общем увеличении 600 раз. Опыты ставились в тех же вариантах, что и при измерении постоянной времени RC. На микрофотографии свежесвепрепарованной мышцы, обработанной суданом черным (рис. 2 а), хорошо видна поперечно-полосатая исчерченность, равномерное распределение окраски между дисками и ярко окрашенные суданом черным скопления фосфатидов вокруг дисков.

Препараты мышц, замороженных жидким азотом (рис. 2 б), резко отличаются от нормы. Поперечно-полосатая исчерченность совершенно исчезает, объем клеток увеличивается (вероятно, за счет расширения воды, содержащейся в волокнах, при замерзании), появляются хлопьевидные сгустки, окрашенные суданом черным. Все это говорит о нарушении нормальной локализации фосфолипидов и их диффузном распространении по всей клетке после разрушительного действия глубокого холода.

Обработка мышц перед замораживанием защитной смесью раствора Эрла с глицерином предотвращает деструктурирование ткани. Поперечная исчерченность полностью сохраняется—окраска волокна остается такой же, как в норме и лишь объем волокон несколько изменяется (объем волокон уменьшается, по-видимому, вследствие обезвоживающего действия глицерина (рис. 2 в)).

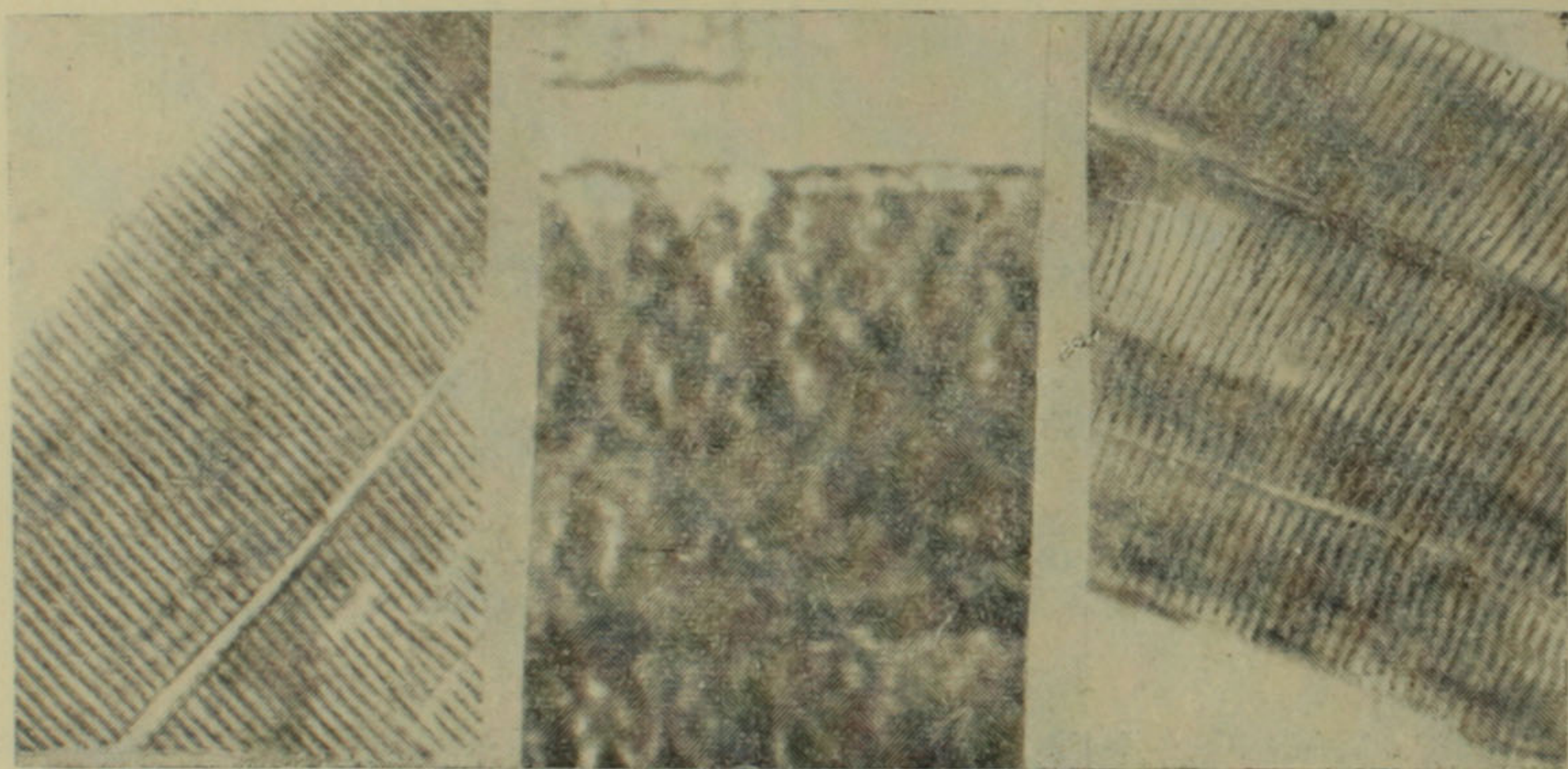


Рис. 2. а) свежепрепарованная мышца; б) мышца, замороженная жидким азотом; в) мышца, замороженная жидким азотом после обработки глицерином.

Таким образом, на основании экспериментальных данных можно прийти к заключению, что при глубоком охлаждении мышц происходит нарушение липопротеиновых структур. При охлаждении после обработки защитной смесью эти структуры в значительной степени сохраняются.

Доцент кафедры цитологии и гистологии Е. А. Шубникова в проведении данной работы оказала ценную консультацию и практическую помощь.

Московский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 2.X 1964 г.

Ե. Վ. ԲՈՒՐԼԱԿՈՎԱ, Է. Ա. ԿԱՐԱԳՈՒԼՅԱՆ, Օ. Բ. ԿՈԼՍ

ՄԿԱՆՆԵՐԻ ԽՈՐԸ ՍԱՌԵՅՄԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ ՆՐԱՆՑ ՄԻ ՔԱՆԻ ՖԻԶԻԿՈ-
ՔԻՄԻԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ա Վ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Հոդվածում բերվում են տվյալներ մկանների էլեկտրահաղորդականության և RC պարամետրի չափման մասին, որը անկախ է արտաքին պայմաններից (էլեկտրոդների մակերեսից, նրանց հեռավորությունից և այլն):

RC պարամետրը հաշվված է թարմ մկանների համար, հեղուկ ազոտով սառեցված մկանների համար, ինչպես նաև այն մկանների, որոնք, նախքան հեղուկ ազոտով սառեցնելը, մշակվել են գլիցերինի լուծույթով:

Թարմ մկանների RC պարամետրի հաշվարկման ժամանակ պարզվեց, որ միևնույն նմուշի համար ֆիքսված հաճախականության վրա RC-ն հաստատուն է: Սառեցման ժամանակ մկանների RC-ն կրում էր զգալի փոփոխություններ, որոնց վրա հիմնվելով՝ կարելի է դատել վնասվածքի աստիճանի մասին:

Հոդվածում որպես կոնտրոլ օգտագործված է ֆոսֆորիլիդային կոմպլեքսների ուսումնասիրությունը: Փորձերը ցույց տվեցին, որ ֆիզիկո-քիմիական ստրուկտուրաների քայքայումը, որը տեղի է ունենում մկանների մեջ՝ վերջիններս հեղուկ ազոտով սառեցնելու ժամանակ, բացակայում է այն դեպքում, երբ նրանք նախօրոք մշակվում են գլիցերինի լուծույթով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кольс О. Р., Карагулян Э. А., Сумаруков Г. В., Джафаров А. И. III Всесоюз. конф. по пересадке тканей и органов. Матер. докл. 1963.
2. Карагулян Э. А. Сб. научн. тр. Инст. переливания крови АрмССР, 11, 1963.
3. Луи Рэ. Консервация жизни холодом, 1962.
4. Plügge H. Pflüger Archiv für die Gesamte physiologie des Menschen und der Tiere, т. 230, 1932.