

1. Авцын А. П., Марачев А. Г., Матвеев Л. Н. Тез. докл. 2-й Всесоюзн. конф. по адаптации человека к различным географическим, климат. и производ. условиям. 1, 4, Новосибирск, 1977.
2. Захарян А. Б. Кровообращение, 7, 5, 64, 1974.
3. Казначеев В. П., Шорин Ю. П. Вестник АМН СССР, 7, 76, 1980.
4. Калужный И. Т., Нарбеков О. Н., Белякова Р. Б., Баймуратова Р. Х. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 110, 94, 1976.
5. Канторович И. Н. Уч. записки Кабардино-Балкарского гос. унт-а, 33, 113, 1966.
6. Макаров В. К. В кн.: Человек и среда. Л., 1975.
7. Миррахимов М. М., Раимжанов А. Р. В кн.: Человек и среда. Л., 1972.
8. Пилипенко Г. В. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 110, 100, 1976.
9. Пилипенко Г. В. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 105, 1976.
10. Саалиева Р. З. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 123, 54, 1977.
11. Саалиева Р. З. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 91, 1977.
12. Саалиева Р. З. Сб.: Научн. тр. Кирг. мед. института, 111 1977.
13. Степанян М. С., Казарян Г. А. Мат-лы 2-й республ. конф. эндокринологов Армении. 48, 1968.
14. Ткачев А. В., Ардашев А. А., Аветисян Е. К. Тез. докл. 2-й Всесоюзн. конф. по адаптации человека к различным географ., климат. и производ. условиям. 1, 321. Новосибирск, 1977.
15. Шурыгин Ю. М., Алексеева М. М., Калпов В. А. и др. Адаптация человека в особых условиях обитания. Л., 1978.
16. Ярославский В. Е., Бычков В. Г. В кн.: Научн-тех. прогресс и приполярная медицина. 1, 282. Новосибирск, 1978.
17. Rastogi G. K. J. Clinic Endocrin, 44, 3, 447—452, 1977.
18. Slater J. D. Clin Sci, 37, 10. 327—341, 1969.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 576.893.192.6

КРИОПРЕЗЕРВАЦИЯ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ СТАДИИ PLASMODIUM BERGHEI

А. С. ОГАНЕСЯН

Криогенное консервирование эритроцитарных стадий малярийных паразитов обеспечивает хранение нужных штаммов, которые не теряют столь важных свойств, как инфективность.

Ключевые слова: криопрезервация, эритроцитарные стадии, криопротектант.

Одной из наиболее интересных и важных в практическом отношении проблем современной медицинской протозоологии является криогенное консервирование патогенных простейших, в частности, малярийных паразитов. Методы криопрезервации могут обеспечивать длительное хранение необходимых штаммов с целью создания банков референс-штаммов, их сравнительного изучения в разных лабораториях мира, дальнейшего культивирования и накопления иммуногенного материала для вакцинации, испытания химиотерапевтических препаратов [3, 4].

Перевиваемые штаммы в лабораторных условиях используются на протяжении длительного периода и поддерживаются непрерывным пассивированием. Известно, что длительное пассивирование на животных может привести к изменению вирулентности и инфективности данного штамма по сравнению с исходной.

Хотя известно об относительной устойчивости эритроцитарных стадий малярийных паразитов к разным режимам замораживания, оптимальные условия сохранения как жизнеспособности клеток-хозяев, так и инфективных свойств паразитов на разных стадиях развития все еще являются объектом изучения. Обычно для замораживания эритроцитарных стадий малярийных паразитов млекопитающих применяется двухступенчатый способ замораживания, включающий предварительное замораживание при -20° , -31° или -70° до погружения в жидкий азот при температуре -196° . Оптимальной температурой при замораживании считается температура жидкого азота (-196°) или его пары (-170°), где паразиты сохраняют жизнеспособность. Установлено также, что кровяные стадии малярийных паразитов лучше выдерживают замораживание при применении таких криозащитных веществ, как глицерин [2] и диметилсульфоксид [1].

Материал и методика Исследования проводились на штамме *P. berghei*, полученном из Гданьского института морской медицины, ПНР, в 1962 г. Штамм поддерживался непрерывными еженедельными пассажами на беспородных белых мышах 10—12 г. Мышей заражали инфицированной кровью с 10%-ной паразитемией внутривенно по 0,1 мл. На 5—6-е сут. после заражения у белых мышей развивалась паразитемия, достигающая 80—90%. Гибель мышей наступала на 7—8-е сут. Приготовленные мазки крови фиксировали в метиловом спирте 1—2 мин. Окрашивание мазков проводили по методу Романовского-Гимзы на фосфатном буфере в течение 15—20 мин в термостате при 37° .

В качестве замораживающей смеси нами выбрана смесь с низким содержанием глицерина: 28%—глицерина, 3%—сорбитола и 0,65%—NaCl [5].

Замораживание образцов осуществлялось после отделения инфицированных эритроцитов от плазмы путем центрифугирования при 1500 об/мин в течение 10 мин. Надосадочная жидкость сливалась, а осадок ресуспендировали в соответствующем количестве криозащитного вещества. Были использованы разные соотношения инфицированной крови мышей и криопротектанта (1:1, 1:2, 1:3). Инфицированный материал в объеме 0,5 мл. (смесь инфицированной крови с криопротектантом) замораживали путем медленного погружения в пары жидкого азота.

Оттаивание проводилось быстро, переносом инфицированного материала из жидкого азота в теплую воду при температуре 37° на одну мин. Образцы с инфицированным материалом центрифугировали при 1500 об/мин в течение 7 мин. Надосадочную жидкость сливали, а осадок ресуспендировали в равном объеме 3,5% NaCl и центрифугировали при том же режиме.

Результаты и обсуждение. В данной работе приводится оценка материала, находящегося в условиях глубокого замораживания в течение 42—123 дней. Определение соотношения разных стадий развития паразитов в крови выявило, что при хранении зараженной *P. berghei* крови в парах жидкого азота при -170° с максимальной паразитемией до 90% последняя снижается почти вдвое. При этом отмечаются резкое уменьшение числа колец и лучшая выживаемость трофозоитов по сравнению с кольцами. Так, при хранении инфицированного материала

(исходная паразитемия 90, кольца—27, трофозонты—38, шизонты—25%) в течение 42 дней общая паразитемия снижалась до 47% и обнаруживалось следующее соотношение стадий развития: кольца—2, трофозонты—36, шизонты—9%. Увеличение срока хранения до 123-х дней не вызывало уменьшения количества инфицированных эритроцитов (общая паразитемия—42%) и содержащихся в них эритроцитов. Было отмечено снижение количества колец и шизонтов: кольца—1, трофозонты—29, шизонты—12%. Контроль сохранности исходной инфективности штамма проверяли путем интраперитонеального заражения белых мышей, которым вводилось 0,1 мл. инфицированной крови. Мыши при первичном заражении погибали на 9—10-е сут, однако на втором пассаже первоначальные сроки гибели восстанавливались.

Таким образом, на основании количественной оценки не только общей паразитемии, но и соотношения различных стадий (кольца, трофозонты, шизонты), а также контроля инфективности замороженного материала на белых мышах нами предлагается упрощенный, одноступенчатый способ замораживания эритроцитарных стадий возбудителя малярии призывов.

Институт медицинской паразитологии и тропической
медицины им. Е. И. Марциновского МЗ СССР, г. Москва

Поступило 2.IV 1982 г.

PLASMODIUM BERGHEI ԷՐԻԹՐՈՑԻՏԱՐ ՓՈՒԼԵՐԻ ԿՈՆՍԵՐՎԱՑՈՒՄԸ

Հ. Ս. ՕԳԱՆԵՍԻԱՆ

Կրիոգեն կոնսերվացման բազմաթիվ մեթոդները հնարավորություն են տալիս ապահովել անհրաժեշտ շտամների երկարատև պահպանումը իմունոգեն նյութի կուտակման նպատակով՝ հետագա վակցինացման և քիմիաթերապևտիկ պրեպարատների փորձարկման համար: Որպես օրենք մալարիայի պարազիտների էրիթրոցիտար փուլերի կոնսերվացումը (սառեցումը) կատարվում է երկաստիճանային եղանակով: Մենք առաջարկում ենք ավելի պարզ մեկաստիճանային եղանակ, որի դեպքում վարակված արյան կոնսերվացումը կատարվում է հեղուկ ազոտի գոլորշիների միջավայրում 42—123 օրվա ընթացքում, որի հետևանքով մալարիայի պարազիտները պահպանում են իրենց վարակիչ հատկությունները:

CRYOPRESERVATION OF ERYTHROCYTIC STAGES OF *PLASMODIUM BERGHEI*

H. S. OGANESIAN

There are many methods of cryopreservation that may secure prolonged storage. Usually, for freezing erythrocytic stages of malarial parasites two-stepping methods are used. We propose a one-stepping freezing method in the vapour of liquid nitrogen of the infected blood, that was in the liquid nitrogen for 42—123 days. During this period the infected blood doesn't lose its properties.

1. Collins W. E., Jeffery G. M. J. of Parasitology, 48, 521—525, 1973.
2. Jeffery G. M. J. of Parasitology, 48, 601—606, 1962.
3. Leef J., Strome C. P. A., Beaudoin R. L. Bullet. in of the World Health Organization, 57, 87—91, 1979.
4. Mitchell C. et al. Clinical and experimental immunology, 28, 276—279, 1977.
5. Rowe A. W., Eyster E., Kellner A. Cryobiology, 119—128, 1968.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 576.3+577.3+578.088

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ КЛЕТОЧНЫХ И МОДЕЛЬНЫХ МЕМБРАН

С. А. БАДЖИНЯН

Рассматриваются литературные и собственные данные о применении флуоресцентных зондов в исследовании структурных изменений биологических и модельных мембран при воздействии на них различных биологически активных соединений. Приведены используемые при исследовании различных мембранных процессов флуоресцентные зонды, описаны их свойства и характеристика.

Ключевые слова: биологические мембраны, модельные мембраны, флуоресцентные зонды, липосомы.

Изучение молекулярной организации и функционирования мембран клеток и внутриклеточных структур в настоящее время является одним из ведущих направлений современной биологии.

Исследование физической структуры биологических мембран представляет некоторую сложность. Сложный состав, гетерогенность, высокое светорассеяние суспензии мембран в значительной мере затрудняют применение оптических методов и интерпретацию результатов. Кроме того, большинство физико-химических и оптических методов дает информацию о мембране в среднем, тогда как структурные изменения при ее функционировании происходят, возможно, только в отдельных активных участках. В последние годы после публикации работ Добрецова [3, 6, 13] для исследования мембран стали применяться флуоресцентные зонды (ФЗ). ФЗ связываются не со всей мембраной, а только с определенными для каждого ФЗ ее участками. Если в участке связывания происходит изменение заряда, микровязкости или информации, то зонд реагирует на них изменением флуоресценции. В сравнении с другими оптическими методами флуоресценция менее чувствительна к светорассеянию, а флуориметры более доступны для парамагнитных зондов, чем спектрометры ЭПР.

В настоящее время имеется много данных о применении десятков флуоресцентных зондов для изучения самых разнообразных модельных и изолированных мембран, а также интактных клеток.