

рестроек в мембране, или выхода в кровеносное русло молодых эритроцитов. Возможно, оба процесса происходят одновременно.

Таким образом, ЭСП исследуемых напряженностей в условиях нашего эксперимента непосредственного действия на прочность ЭМ не оказывает. Повышение резистентности эритроцитов в экспериментах *in vivo* является следствием опосредованного действия внешних ЭСП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агамян А. Г., Оганесян С. С. Косм. биол. и авиакосм. мед., 17, 6, 60—62, 1983.
2. Ариуни Г. Г. Мат-лы научн. конф. мол. уч., посвящ. 25-му съезду КПСС, 32, Ереван, 1975.
3. Ариуни Г. Г. Мат-лы научн. конф. мол. уч., посвящ. 25-му съезду КПСС, 34, Ереван, 1975.
4. Гончаренко М. С., Катков И. И. Биофизика, 30, 3, 441—445, 1985.
5. Гительзон И. И., Терсков И. А. В кн.: Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. 48—56. М., 1967.
6. Чизмаджев Ю. А., Черномордик Л. В., Пастушенко В. Ф., Абибор И. Г. В кн.: Итоги науки и техники. Биофиз. мембран, 2, 161, М., 1982.
7. Araki K., Rifeind J. В: *Intm. Biophys. Acta*, 615, 81—90, 1981.
8. Bendz G., Tlavis B., *e. a.* IZA *Biomembranes*, 775 (M 121), 2, 257—153, 1981.
9. Ben-Sasson Sh., *e. a.* *Analyt. Quant. Cytol.*, 4, 309—314, 1982.
10. Coster H., Zimmermann C. J. *Membrane Biol.*, 22, 73—94, 1975.
11. Deuticke B. *Happ—Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 345, 3, 229—230, 1964.
12. Kinoshita K., Tsong T. *Biochim. Biophys. Acta*, 571, 2, 479—497, 1979.
13. Mose J., Fischer G. *Arch. Hyg.*, 197, 6, 349, 1971.
14. Mose J., Shug S., Fischer G. *Biomol. Techn.*, 17, 2, 55, 1972.
15. Riemann Z., Zimmermann U. *Pflüger's Arch. BBA*, 394, 349, 1975.
16. Rifeind J., Araki K., Hadley E. *Arch. Biochem. Biophys.*, 221, 582—81, 1983.
17. Sida T., Maeda N., Sekiya M. *e. a.* *Med. J. Osaka Univ.*, 29, 1—2, 21—23, 1978.

Получено 31.1987 г.

Бюллет. ж. Армения. 1988, № 5, 1988

УДК 616.155.1—097

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭРИТРОЦИТОВ С ИЗМЕНЕННЫМ ПОКАЗАТЕЛЕМ ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНОВ АВО

Т. И. ГАРЕГИНИ

Ереванский медицинский институт, кафедра биологической и медицинской физики

Показано, что после обработки эритроцитов УЗ при снижении показателя экспрессии антигенов системы АВО происходят достаточно выраженные изменения в СОЭ и морфологии клеток.

Քայլով է արվում որ էրիթրոցիտների էլեկտրաֆորետիկ շարժման արյան նստահարմարության ցուցանիշների կապակցությամբ արժեքների նվազման ընդհանուր կերպով է արվում է էրիթրոցիտների նստահարմարության և մորֆոլոգիայի զգալի փոփոխությունների:

Сокращения: УЗ—ультразвук; ЭФИ—электрофоретическая подвижность; СОЭ—скорость оседания эритроцитов.

It is shown that after ultrasonic action with the change of index of ABO antigene system expression marked alterations take place in reaction of sedimentation and morphology of cells.

Эритроциты—антигены системы ABO.

Обработка эритроцитов ультразвуком вызывает изменение показателей экспрессии антигенной системы ABO, в частности, снижение титра антигенов при стандартной реакции гемагглютинации [1, 3]. Вопрос о взаимосвязи этого явления с состоянием мембран и сдвигами физико-химических параметров эритроцитов изучен недостаточно, хотя имеет большое прикладное значение в связи с возможностью ультразвуковой модификации форменных элементов крови.

Материал и методика. Работа проведена в Центральном институте переливания крови и гематологии МЗ СССР и на кафедре физики ЕрМН в 1985 г. Эритроциты были выделены из свежей донорской крови A(II) и B(III). Ультразвуковую обработку клеток осуществляли на частоте 0,88 МГц в режиме амплитудно-импульсной модуляции при длительности импульсов 2 мс и частоте следования 50 Гц с помощью аппарата УЗТ-101. Обработку эритроцитов проводили при 37° в специальной термостатируемой кювете, где обеспечивалась бегущая ультразвуковая волна. Температура поддерживалась в пределах 1°.

Архитектонику поверхности эритроцитов изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии EM-100 С (Япония). Суспензию эритроцитов фиксировали 2,5%-ным раствором глутарового альдегида, приготовленного на кокадилатном буфере (рН 7,2). После часовой инкубации при комнатной температуре клетки дважды промывали тем же буфером [2], затем фиксировали 2,5%-ным раствором четырехокиси осмия на основном буфере в течение 10—60 мин [1]. Клетки обезвоживали возрастающими концентрациями этанола, затем полученную взвесь наносили тонким слоем на медные пластины, высушивали на воздухе и напыляли золотом, используя установку УЕЕ-4С (Япония). У 100—115 эритроцитов каждой пробы высчитывали процентное соотношение типов клеток и фотографировали их.

Эффективный объем и распределение эритроцитов по размерам проводили с помощью счетчика «Coulter Counter, Model ZBI» (Франция). Эритроциты донорской крови первоначально дважды разбавляли физиологическим раствором так, чтобы количество подсчитываемых клеток было совместимо с возможностями прибора. Эритроциты разбавляли в соотношении 1:1500, используя калибровочный дозатор и автоматический дилутор. Измерения повторяли трижды с точностью $\pm 3,92$. Электрический заряд поверхности эритроцитов оценивали по электрофоретической подвижности, которую определяли на цитоферометре «Orton» (ФРГ) при режиме 5 мА, 100 В, $t = 25^\circ$. Передвижение клеток регистрировали с использованием фазово-контрастного микроскопа (ув. 800 раз). Электрофоретическую подвижность рассчитывали по формуле:

$$V = \frac{1}{E} \frac{1}{t} \text{ см}^2 \text{ вольт}^{-1} \cdot \text{сек}^{-1}, \quad (1)$$

где l —расстояние (в мкм), проходимое клеткой за время измерения, E —напряженность поля в В/см, t —время, необходимое для прохождения расстояния эритроцитом.

Величину E рассчитывали по формуле

$$E = \frac{Iz}{hZ}, \quad (2)$$

где I —сила тока в амперах, ρ —удельное сопротивление буферного раствора, h —высота камеры, z —глубина камеры в см. Точность измерения $\pm 0,0185$ мкм/см/сек⁻¹ В.

Реакцию оседания эритроцитов определяли микрометодом Паченкова. Кровь смешивали с 5%-ым раствором лимоннокислого натрия (4:1).

Регистрацию кислородно-диссоциационных кривых проводили на сканирующем анализаторе Непи-О-Сеп (Япония) при pH 7.4, P_{CO_2} — 40 мм рт. ст., $t = 37^\circ$.

Потоки Na^+ и K^+ через мембрану эритроцитов измеряли анализатором «IL System 502 Na^+/K^+ » (США) ионоселективными электродами с пределом измерения 0,05 ммоль/л.

Была проведена следующая статистическая обработка полученных результатов.

1. С помощью программируемого микрокалькулятора «Электроника МК-61», согласно готовой программе, для таких параметров, как объем, заряд, СОЭ эритроцитов, вычислены средние значения

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n m_i x_i.$$

исправленная дисперсия $S^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n m_i (x_i - \bar{X})^2$, среднее квадратического смещения — стандарт.

2. Произведена оценка среднего значения генеральной совокупности упомянутых величин, распределенных согласно Стьюденту, через доверительные интервалы с достоверностью 0,95.

3. Составлены эмпирические линейные уравнения регрессии для значений параметров контрольных и озученных эритроцитов и отдельно вычислены коэффициенты корреляции.

Значения этих коэффициентов показывают, что в основном имеет место тесная взаимосвязь между соответствующими параметрами необработанных и обработанных эритроцитов.

Результаты и обсуждение. В контрольных опытах интактные эритроциты обратимо изменяли свою форму при помещении в различные растворы. В физиологическом растворе они имели форму двояковогнутого диска, в изотоническом солевом растворе — дискоцитов и тутовых ягод. Клетки, перенесенные вновь в свежую плазму, приобретали двояковогнутую форму без изменения объема.

После обработки ультразвуком изменяется количественное соотношение отдельных форм эритроцитов. Если в пробе с интактными клетками дискоциты составляли 36,5%, а «тутовые ягоды» — 63,5%, то в пробе с модифицированными ультразвуком эритроцитами эти формы составляли соответственно 44,8 и 55,2%, т. е. снижается частота появления эхиноцитов и увеличивается число дискоцитов. Следовательно, обработка ультразвуком модифицирует архитектуру поверхности эритроцитов.

Сопоставление эффективных объемов эритроцитов группы А (II) и В (III) при различных титрах агглютинации не выявляет значительной разницы. Так, для группы А (II) с титром 1/32 характерны клетки объемом 82,17 $\mu\text{м}^3$, а с титром 1/8 — 79,48 $\mu\text{м}^3$, для группы В (III) — клетки с титром 1/64 имеют объем 83,87 $\mu\text{м}^3$, с титром 1/16 — 81,8 $\mu\text{м}^3$. Можно говорить лишь о тенденции к небольшому снижению объема, однако его физическое значение, по-видимому, незначительно.

Электрический поверхностный заряд эритроцитов — чувствительный физико-химический показатель физической полноценности, связанный с молекулярными перестройками мембраны клетки. При сопоставлении данных об электрофоретической подвижности эритроцитов с различны-

ми показателями экспрессии антигенов также не обнаружено существенной разницы (табл. 1).

Таблица 1. Электрофоретическая подвижность необработанных и обработанных ультразвуком эритроцитов групп крови А (II) и В (III)

ЭФП эритроцитов группы А (II)		ЭФП эритроцитов группы В (III)	
титр 1/32	титр 1/8	титр 1/64	титр 1/16
112	0,97		
0,956	0,943	1,064	1,044
0,96	0,92	1,012	1,01
1,11	1,11	0,962	0,94
1,014	1,014	1,06	1,05
1,07	0,967	1,12	1,11
0,956	0,943	1,029	1,019
1,02	1,01	0,96	0,94
0,936	0,92	1,048	1,03
1,06	1,05	1,02	1,01
1,018±0,066		0,983±0,056	
		1,038±0,047	
		1,02±0,046	

Одним из существенных для оценки функционального состояния эритроцитов показателей является форма кривой насыщения эритроцитов кислородом. Мы определяли не только степень кооперативности, но и сродство гемоглобина к кислороду путем оценки P_{50} , т. е. величины парциального давления O_2 , при которой насыщены 1/2 всех участков связывания.

Результаты этой серии опытов показали, что величина P_{50} для контрольных и модифицированных ультразвуком эритроцитов различается незначительно и находится в пределах ошибки. По гемолизатам отклонения от нормы практически отсутствуют.

Особый интерес представляет воздействие ультразвука на величину пассивной проницаемости мембран эритроцитов для одновалентных ионов калия и натрия. Этот параметр весьма чувствителен к изменениям белково-липидных отношений в мембранах эритроцитов. В опытах был определен выход K^+ и Na^+ из эритроцитов. Попытка определить количество этих катионов в гемолизатах крови не увенчалась успехом из-за неполного гемолиза в отдельных случаях, возможно, и реабсорбции на телях эритроцитов. Было обнаружено, что после отмывок и обработки ультразвуком эритроцитов выход в супернатант K^+ ультразвуком, снижая показатель антигенов системы АВО, незначительно увеличивает выход Na^+ .

Полученные результаты показывают, что обработка эритроцитов ультразвуком, снижая показатель антигенов системы АВО, незначительно повышает выход Na^+ , не затрагивая выход K^+ .

Расчет скорости оседания эритроцитов, величина которой в разных пробах контрольной группы колеблется в широких пределах, показал зависимость от степени экспрессии антигенов, когда сравнивались необработанные и обработанные ультразвуком эритроциты (табл. 2).

Таблица 2. Скорость оседания необработанных и обработанных ультразвуком эритроцитов групп крови А (II) и В (III)

СОЭ		СОЭ	
титр 1:32	титр 1:8	титр 1:64	титр 1:16
4	8	7	8
6	13	5	7
3	5	5	6
4	7	13	16
10	15	5	7
10	12	6	9
8	10	7	9
6.2 ± 2.78		10.375 ± 3.24	
6.86 ± 2.61		8.9 ± 3.09	

При ультразвуковой обработке эритроцитов донорской крови изменяется показатель экспрессии антигенов, что приводит к достаточно выраженным изменениям морфологии, СОЭ эритроцитов, однако ЭФП, эффективный объем, проницаемость ионов K^+ и средство к кислороду практически не меняются.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пурюзян Л. А., Маме Р. Г., Нисенвич М. М., Койфман М. М., Корнев С. П. Биофизика, 31, 2, 269—273, 1986.
2. Palade G. E. J. Exp. Med., 155, 245—268, 1982.
3. Pinamonti S., Gallenga P. E. and Mazzeo V. Ultra-ound in Med. & Biol., 8, 6, 1982.
4. Sabatini D. D., Bensch K., Barnett R. J. J. Cell Biol., 17, 19—58, 1963.

Поступило 18.XII 1987 г.

Биолог. ж. Армении, т. 41, № 5, 1988

УДК 612.714.14

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СОСТОЯНИЯ АКТМИОЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РЕАКЦИИ СУПЕРПРЕЦИПИТАЦИИ

Б. А. ТИКУНОВ

Институт кардиологии им. Л. А. Оганесяна МЗ АрмССР, Ереван

Показано, что двухстадийность СПП и АТФазы скелетномышечного натурального актомиозина является результатом синхронного вовлечения и последовательного «срабатывания» в этих реакциях двух типов функционально неэквивалентных белковых комплексов. Варьируя ионной силой раствора, можно сдвигать равновесие в сторону одного либо другого типа актомиозиновых макромолекул, каждому из которых соответствует определенное структурное состояние как до начала, так и после окончания указанных реакций. Предполагается, что эти структурно-функциональные состояния актомиозина являются отражением наличия в растворе комплекса актина с двумя типами миозиновых конформеров.

Сокращения: СПП—суперпреципитация, НАМ—натуральный актомиозин, АО—актиновый-оранжевый.