

УДК 615.012+612.014.462.5

Н. Н. ТЕР-МИНАСОВА, А. Л. АКОПОВА, А. Р. МУРАДЯН,
 Л. Г. МИНАСЯН, Т. Д. КАРАПЕТЯН, Ж. Л. АКОПЯН

КОНСЕРВАЦИЯ ОРГАНОВ В ГЕЛИО-КИСЛОРОДНОЙ СРЕДЕ И НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ИХ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ

Опыты поставлены на изолированных органах белых крыс, которые консервировали в гелио-кислородной среде в условиях гипотермии в течение 12—24—48—72 часов. С целью оценки жизнеспособности консервированных органов изучались показатели энергетического обмена, содержание молочной и пировиноградной кислот, а также уровень гликогена. Проведена оценка бактериологического состояния гелиевой среды. Результаты исследования показали, что использованный метод способствует сохранению биологической активности органов при длительных сроках хранения.

В последнее десятилетие работами отечественных и зарубежных авторов показана возможность использования различных инертных газов для консервации изолированных органов и тканей.

Так, М. Л. Моин [2] и А. Г. Лапчинский [1], консервируя кожу в жидком азоте (-196°) и гелии (-269°), показали стойкое приживление таких трансплантатов и длительное сохранение в них жизнеспособности. Другие авторы [5—7] изучали влияние различных условий консервации почек собак и бабуинов в гелиевой и кислородной средах. При реимплантации почек авторами выявлена лучшая сохранность и длительное функционирование органов, консервированных в гелиевой среде. Используя гелио-кислородную смесь для консервации печени свиньи, Хамет и др. [4] показали возможность длительного сохранения морфологической структуры в ткани в течение 24 и 48 часов. К. А. Пальгов и А. А. Зарайский [3] приводят положительные результаты пересадки костных трансплантатов, консервированных в аргоне.

Целью настоящей работы являлось изучение возможности длительного хранения изолированных органов в условиях гелиевой среды и гипотермии. Основанием для использования гелия в качестве консерванта являлись основные физико-химические свойства этого инертного газа. В связи с требованиями, предъявляемыми к консервирующим средам (снижение обменных процессов и вместе с тем обеспечение кислородом консервированных органов), мы использовали гелий в сочетании с кислородом при температуре 4°C . Гелиевая смесь содержала 78—80% гелия и 18—20% кислорода. Определение жизнеспособности консервированных органов производили изучением их морфологии и некоторых биохимических показателей. При этом исследовали процессы окислительного фосфорилирования, определяли уровень молочной и пировиноградной кислот, содержание гликогена и электролитов.

Определение дыхательной активности проводилось при помощи пюльрографической регистрации потребления кислорода стандартными срезами, содержание молочной кислоты—по Паркес-Самерсон, пировиноградной—по Парве, гликогена—антроновым методом. Придавая важное значение стерильности консервирующей среды при пролонгированном хранении органов, мы провели также бактериологическое исследование гелио-кислородной среды и возможность размножения в ней внесенной извне микрофлоры.

Опыты проведены на 140 белых крысах обоего пола весом 120—250 г. Для консервации изолированных органов была сконструирована специальная установка, состоящая из баллона с гелиевой смесью и стеклянного сосуда, в который помещали органы. Стеклянный сосуд имел герметически закрывающуюся пробку с двумя вставными трубками. Приводящая трубка соединялась с баллоном, содержащим гелиевую смесь. После декапитации крыс производили быстрое извлечение сердца и почек. Изолированные органы промывали охлажденным до $+4^{\circ}\text{C}$ раствором Рингера и помещали во влажные целлофановые мешочки, которые подвешивали в сосуде. Затем пробку сосуда герметически закрывали и через приводящую трубку пропускали гелиевую смесь при температуре 4°C под давлением 60—80 мм рт. ст. Через 8—10 минут, после полного вытеснения воздуха гелием, трубки закрывали, сосуд помещали в холодильник и хранили в течение 12—24—48 и 72 часов при температуре 4° . Одновременно проводили контрольные опыты с консервацией органов в воздушной среде при одинаковых сроках хранения.

Изучение бактериологического состояния гелиевой среды проводили в двух сериях. В I-й серии опытов определяли наличие микрофлоры в гелиевой смеси. Для этого разливали твердую питательную среду (агар-агар) на дно стерильного сосуда, используемого для консервации органов, и заполняли его гелиевой смесью, после чего пробку герметически закрывали и сосуд помещали в термостат при температуре 37° на 24 часа. Во II серии опытов для определения возможности размножения патогенной микрофлоры в гелиевой среде после заливки питательной среды в сосуд в нее вводили патогенную микрофлору (золотистый стафилококк, стрептококк и кишечная палочка). После заполнения гелием сосуд герметически закрывали и помещали в термостат на 24 часа. Контрольные опыты проводили при тех же условиях с воздушной средой.

Результаты исследования по определению окислительного фосфорилирования консервированных сердца и почки показали, что при хранении органов в гелио-кислородной среде по сравнению с исходными данными (данными, полученными на органах, взятых непосредственно после забоя животного), отмечалось некоторое повышение эндогенного дыхания с незначительным уменьшением скоростей дыхания в присутствии янтарной кислоты (ЯК) и ЯК с АДФ. Вследствие повышения скорости эндогенного дыхания дыхательный контроль (ДК) снижался, однако ДК/АДФ оставался на уровне нормы. С удлинением срока консервации

почки до 24 часов каких-либо существенных изменений в реакциях дыхательной цепи митохондрий по сравнению с 12-часовой консервацией отметить не удалось. Хранение же почек в воздушной среде выявило, что уже через 12 часов имело место резкое снижение скоростей дыхания во всех метаболических состояниях, и особенно эндогенного, что приводило к резкому увеличению ДК/ЯК с прогрессивным падением ДК/АДФ, через сутки отмечалось углубление этих процессов с полным нарушением энергетической регуляции дыхания. Анализ проведенного исследования позволяет считать, что гелио-кислородная среда в условиях гипотермии способствует поддержанию энергетической системы органа, являясь благоприятной средой для консервации изолированных почек крыс.

При изучении гликолитических процессов было выявлено, что содержание гликогена в обеих средах консервации в течение 12 часов по сравнению с исходной величиной не изменяется. При удлинении сроков консервации до 24 часов отмечается заметное понижение уровня гликогена, менее выраженное в гелио-кислородной среде. 12-часовая консервация почек не вызывала особых отклонений в содержании молочной кислоты, тогда как при 24-часовом хранении органа наблюдалось накопление ее, причем в гелио-кислородной среде отмечена более выраженная активация гликогенолиза. Содержание пировиноградной кислоты при продолжительной консервации почек в воздушной среде понижалось, тогда как гелио-кислородная среда поддерживала количество пирувата на постоянном уровне. В содержании α -кетоглутаровой кислоты не отмечалось заметных изменений. Таким образом, уменьшение содержания гликогена и накопление молочной кислоты свидетельствует о высокой гликолитической активности клеточных элементов почечной ткани и о наличии обменных процессов в них. Вместе с тем гелио-кислородная среда по сравнению с воздушной обеспечивает наиболее оптимальные условия для переживающих тканей. В содержании электролитов при 24-часовой консервации наблюдалось некоторое относительное увеличение ионов натрия в сердце и почке, более выраженное в воздушной среде. В отношении ионов калия при тех же сроках хранения в обеих средах выявлена тенденция к его снижению, однако степень уменьшения его более выражена в воздушной среде.

Гистологическое изучение консервированных органов показало, что при 48-часовом хранении сердца в воздушной среде в саркоплазме групп мышечных волокон отмечалась зернистость, ядра клеток подвергались пикнозу и лизису. При хранении в гелиевой среде указанные изменения были менее выражены. Аналогичные отношения наблюдались в почках: аутолитические процессы при консервации в гелиевой среде имели меньшую выраженность. Хранение сердца в воздушной среде в течение 72 часов приводило к гомогенизации, пикнозу и лизису ядер во многих мышечных волокнах. При сохранении в гелиевой среде саркоплазма чаще оставалась зернистой. Хранение почек в гелиевой среде также характеризовалось менее выраженными аутолитическими процессами.

Результаты бактериологического исследования гелиевой среды показали, что после 24-часовой экспозиции в термостате в опытных сериях роста микробов не обнаружено, тогда как в воздушной среде отмечен обильный рост различной микрофлоры. Таким образом, выявлена стерильность гелио-кислородной среды, что является одним из основных факторов, способствующих удлинению сроков сохранения изолированных органов.

Обобщая результаты наших экспериментов по определению биологической активности консервированных в гелио-кислородной среде в условиях гипотермии органов, можно прийти к заключению, что использованный метод позволяет сохранить жизнеспособность органов при длительных сроках хранения.

Институт кардиологии
МЗ Арм. ССР

Поступила 14/V 1973 г.

Ե. Ե. ՏԵՐ-ՄԻՆԱՍՈՎԱ, Ա. Լ. ԱԿՈՊՈՎԱ, Լ. Գ. ՄԻՆԱՍՅԱՆ, Ա. Ռ. ՄՈՒՐԱԴՅԱՆ,
Գ. Դ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ժ. Լ. ԱԿՈՊՅԱՆ

ՕՐԳԱՆՆԵՐԻ ԿՈՆՍԵՐՎԱԿՑԻԱՆ ՀԵԼԻՈ-ԹԹՎԱԾՆԱՅԻՆ ՄԻՋԱՎԱՅՐՈՒՄ
ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԿԵՍՍՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՄԻ ՔԱՆԻ ԲԻՈՔԻՄԻԱԿԱՆ ԵՎ
ՄՈՐՖՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Սպիտակ առնետների սրտում և երիկամում որոշվել է օրգանի կենսաուսակույթյան բիոքիմիական և մորֆոլոգիական ցուցանիշները հելիո-թթվածնային միջավայրի և հիպոտերմիայի կոնսերվացված պայմաններում: Թըթվեցման ֆոսֆորիլացման ուսումնասիրությունը, որը անց է կացված պոլյարոգրաֆիկ մեթոդով, ցույց տվեց, որ հելիո-թթվածնային միջավայրը հիպոտերմիայի պայմաններում աջակցում է օրգանի էներգետիկ սիստեմի պահպանմանը: Գլիկոլիտիկ պրոցեսների հետազոտության արդյունքները բացահայտեցին, որ օրգանների կոնսերվացիան հելիո միջավայրում ապահովում է օպտիմալ պայմանները հյուսվածքների վերականգնման համար: Հիստոլոգիկ հետազոտությունների հիման վրա որոշված է, որ օպտադործված կոնսերվացիայի մեթոդը հնարավորություն է տվել պահպանել մորֆոլոգիական կառուցվածքների ամբողջականությունը մի քանի օրգաններում 24—48 և 72 ժամվա ընթացքում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Лапчинский А. Г. В кн.: Трансплантация органов и тканей. Матер. V Всесоюзн. конф. по пересадке органов и тканей. Горький, 1970, стр. 475.
2. Моин М. Л. В кн.: Трансплантация органов и тканей. Матер. V Всесоюзн. конф. по пересадке органов и тканей. Горький, 1970, стр. 480.
3. Пальгов К. А., Зарайский А. А. Здравоохранение Казахстана, 1971, 4, стр. 35.
4. Chommette G., Auriol M., Delcourt A., Brochertion C. Pathol. biol., 1971, 19, 9—10, 459.
5. De Pasquale J., Hunt A., Mirand E., Murphy G. Proc. Jowa. Acad. Sci., 1971, 77, 126.
6. Groenewald J., Lyl J. Cryobiology, 1970, 6, 5, 500.
7. Hesse V., Murphy G., Groenewald J. Cryobiology, 1970, 7, 2—3, 174.