

15. Назаров П. Г., Пуринь В. И. Реакция бласттрансформации лимфоцитов в культурах цельной крови. Количественная оценка с помощью стинцилляционного счетчика // Лаб. дело.— 1975.— № 4.— С. 195—197.
16. Прокопенко Л. Г., Кедровская Н. Н. Иммунорегуляторные факторы сыворотки при токсическом поражении печени // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1983.— № 4.— С. 56—60.
17. Dosch H. M., Schuurman R. K., Gelfand E. W. Polyclonal activation of human lymphocytes in vitro — II. Reappraisal of T and B cellspecific mitogens // J. Immunol.— 1980.— 125, N 2.— P. 827—832.
18. Gupta S., Schwartz S. A., Good R. A. Subpopulations of human T lymphocytes. VII. Cellular basis of concanavalin A-induced T cellmediated suppression of immunoglobulin production by B lymphocytes from normal humans // Cell. Immunol.— 1979.— 44, N 1.— P. 242—251.
19. Knapp W., Posch B. Concanavalin A-induced suppressor cell activity opposing effect of hydrocortisone // J. Immunol.— 1980.— 124, N 1.— P. 168—172.
20. Sakane T., Green I. Human suppressor T cell induced by concanavalin A; suppressor T cell belong to distinctive T cell subclasses // Ibid.— 1977.— 119, N 3.— P. 1169—1178.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 25.05.90

УДК 57.08+543.2+533.1+613.2

Б. С. Сушко

Вариации эффективных коэффициентов диффузии кислорода в тканях крыс разного возраста под действием алиментарного фактора

Для количественной оценки транспорта кислорода в тканях животных в настоящее время существует два подхода. Один из них, основанный на постулате Варбурга и Крога о том, что молекулярный кислород распределяется в тканях и клетках только путем диффузии, использует математические диффузионные модели. Другой — экспериментальным путем выясняет распределение O_2 в биологических объектах, определяя числовые характеристики массопереноса [1, 2, 5, 9, 15, 17, 18, 20—25].

В нашей работе на основании результатов экспериментальных исследований представлены численные значения эффективных коэффициентов диффузии кислорода (DO_2) в мышечной ткани и области подкожной клетчатки крыс разного возраста в контроле и при воздействии пищевыми добавками растительных жиров разной насыщенности.

Методика

Эффективные коэффициенты диффузии кислорода оценивали *in vivo* с помощью диффузионного датчика O_2 и аппаратуры, описанных в наших предыдущих работах [1, 9]. Датчик представлял собой торцевой платиновый электрод в стеклянной изоляции, стационарно зафиксированный внутри инъекционной иглы диаметром 0,5 мм. Диаметр рабочей поверхности платины составлял около 50 мкм. Индифферентным электродом служил хлорсеребряный электрод, который соединялся с телом животного посредством физиологического раствора в стеклянном стаканчике. Проводившиеся измерения основаны на полярографическом принципе. При подаче на датчик рабочего поляризующего напряжения 0,6 В в цепи электродов возникает диффузионный ток кислорода, быстро убывающий в течение первых секунд — так называемый бросковый ток. Кинетика формирования броскового тока зависит от скорости поступления молекул кислорода в зону электрохимической реакции восстановления

© Б. С. СУШКО, 1991.

кислорода, находясь в тканях. Значения броскового тока зависят от скорости диффузии кислорода в ткани. Оценка DO_2 проводится по бросковому току, измеренному в каждой точке ткани. Средние значения DO_2 рассчитываются по формуле:

Оценку DO_2 проводили в голени крыс, (на 100 г массы тела) в течение 1,5 мес) и взрослых крыс (на 1,5 мес) и взрослых крыс (на 1,5 мес) производили добровольно. Содержание кислорода в крови определяли с помощью автоматического анализатора. На забор крови брали из четырех точек в каждой конечности. Средние значения DO_2 рассчитывали по формуле:

Результаты и их обсуждение

Как показали наши исследования, эффективные коэффициенты диффузии кислорода в мышечной ткани и области подкожной клетчатки крыс разного возраста в контроле и при воздействии пищевыми добавками растительных жиров разной насыщенности. Значения DO_2 в мышечной ткани и области подкожной клетчатки крыс разного возраста в контроле и при воздействии пищевыми добавками растительных жиров разной насыщенности. Значения DO_2 в мышечной ткани и области подкожной клетчатки крыс разного возраста в контроле и при воздействии пищевыми добавками растительных жиров разной насыщенности.

кислорода, находящейся вблизи рабочей поверхности датчика. Дискретные значения броскового тока через равные промежутки времени в течение первых 5—6 с регистрировали в памяти управляющего вычислительного устройства через усилитель тока и аналого-цифровой преобразователь. Посредством программы происходили автоматическое управление ходом опыта и анализ бросков тока на протяжении всего цикла измерений. Результаты анализа регистрировали печатным устройством. Калибровку проводили в термостатированном до 30 °С слое физиологического раствора, уравновешенного с газами воздуха и насыщающими водяными парами после каждого цикла измерений. Калибровочное значение коэффициента диффузии O_2 приравняли к $3,03/10^{-5}$ см²/с. Дальнейший анализ заключался в сравнении рассчитанных параметров броскового тока, пропорциональных коэффициентам переноса кислорода к рабочей поверхности датчика, в тканях и калибровочной среде.

Оценку DO_2 производили в мышечной ткани и подкожной области голени крыс, находящихся под легким хлоралозо-уретановым (на 100 г массы 5 мг и 50 мг соответственно) наркозом [1, 9]. Исследования проведены на животных двух возрастных групп: молодых (1—1,5 мес) и взрослых (6—8 мес). Алиментарное воздействие на животных производили добавлением к обычной пище растительных жиров с различным содержанием насыщенных жирных кислот (НЖК) в течение 2—3 нед в концентрации 0,2 г на 100 г массы в сутки. Использовали два вида жиров: растительные рафинированное и гидролизованное масло с содержанием НЖК более 60 %. На протяжении одного цикла автоматического измерения результаты регистрировали от одной точки ткани. На задних конечностях животных измерения проводили в четырех произвольных точках: в двух точках на каждой лапе, чередуя измерения в мышечной ткани и подкожной области. За цикл для каждой точки ткани проводили от 20 до 30 измерений параметров броскового тока, по которым оценивали эффективные коэффициенты диффузии и их средние значения для данной точки ткани.

Средние значения DO_2 по каждой из 12 групп результатов находили, используя обычные методы статистики.

Результаты и их обсуждение

Как показали наши настоящие и предыдущие исследования, значения эффективных коэффициентов DO_2 в мышечной ткани и подкожной области голени крыс довольно широко варьируют. Значение DO_2 изменяется в зависимости от времени измерения, точки измерения, возраста животного, вида ткани и при воздействии жировыми диетами [1, 9]. Во многих случаях в начале измерений регистрируют более низкие значения DO_2 , которые постепенно возрастают до определенного стационарного значения. Такое возрастание DO_2 отмечали в первые 5—10 мин измерений и не включали в расчет средних значений. Объяснение начального возрастания DO_2 нуждается в отдельном анализе. Вероятно, это возрастание вызвано механическим действием датчика на ткань. В таблице представлены средние значения эффективных коэффициентов диффузии кислорода в исследованных тканях животных разных экспериментальных групп. В контроле наиболее низкие средние значения DO_2 характерны для мышечной ткани взрослых животных, они почти на порядок ниже, чем в калибровочном растворе. Высокие значения коэффициентов присущи подкожной области взрослых и молодых животных. Для взрослых животных характерно различие DO_2 мышечной ткани и подкожной области. Средние значения коэффициентов исследованных тканей молодых животных практически не различаются и, таким образом, являются более однородными по отношению к транспорту кислорода, чем ткани взрослых животных.

Значения эффективных коэффициентов диффузии кислорода, обнаруженные в тканях животных двух контрольных возрастных групп, как

Средние значения эффективных коэффициентов диффузии кислорода ($\bar{D}O \cdot 10^6$ см²/с) в тканях животных различных возрастных групп ($M \pm m$)

Серия	Мышечная ткань		Подкожная область	
	молодых животных	взрослых животных	молодых животных	взрослых животных
Контрольные животные	5,72±1,00 (13)	3,70±1,81 (12)	5,29±1,43 (10)	6,39±1,40 (8)
Животные, получавшие к основному рациону насыщенные жирные кислоты	10,58±1,85 (9)	2,66±0,51 (10)	10,35±2,45 (9)	3,22±1,00 (6)
Животные, получавшие к основному рациону ненасыщенные жирные кислоты	7,22±2,09 (10)	8,98±2,03 (4)	11,56±2,35 (8)	12,65±1,87 (6)

Полученные результаты о вариациях тканевого коэффициента диффузии позволяют заключить, что условия транспорта кислорода в тканях не постоянны. Обсуждая эти результаты, необходимо прежде всего исключить возможность методической ошибки. Не подвергая пока анализу теорию диффузионного датчика, которая достаточно хорошо разработана электрохимиками [4, 7], мы проверили работу датчика в средах с различными коэффициентами диффузии. Ранее было показано, что в растворах с различной концентрацией альбумина коэффициент DO_2 уменьшается с возрастанием концентрации белка [9]. Специальные опыты проведены нами с растворами эритроцитов. Оказалось, что в плотной свежееотцентрифугированной эритроцитарной массе коэффициент DO_2 при 20°C составляет $(0,44 \pm 0,02) \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$ и возрастает по мере разбавления ее буферным раствором. Для объемного соотношения эритроцитов и буфера 1:1 DO_2 повышается до $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$, а для 1:10 — до $1,6 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$. Таким образом, повышение плотности среды, увеличение концентрации клеточных элементов способствуют уменьшению коэффициента диффузии, что оправдывает применяемый нами метод, по крайней мере, качественно.

Нельзя не упомянуть, что в процессе приватизации не происходит изменения структуры собственности, а следовательно, и структуры управления. И прежде всего это касается дифференциации собственности на более плотные и менее плотные, предельно возможные и невозможные.

Изменения эффективных коэффициентов диффузии кислорода в мышце (А) кожной области (Б) дых (светлые столбики) взрослых (заштрихованные столбики) крыс при тарном воздействии тельными жирами контролю): а — ж преобладанием насыщенных жирных кислот, б — ненасыщенных кислот. * $P < 0,05$.

экономией катализаторов к гомогенно-гетерогенным системам. Наличие значимых различий в кинетических параметрах структур, катализаторов, ферментов, лекулярных ансамблей, в результате которых валентное состояние

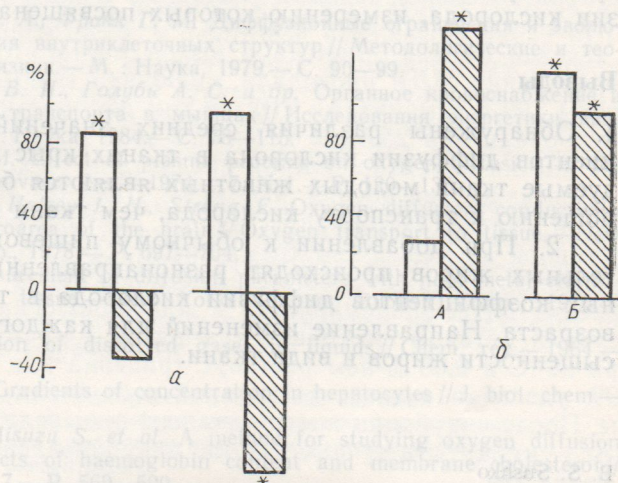
В наших ми
в одиночных клет
веденных Jones
ной картины рас
свойства живого
моделях, но и во
ство между капи
ными, а представ
в отношении тра
вые системы нел
зионную среду с
ко за счет тепло
движения в зву
кулярной диффу
деленным образо
цы, и все в ней
держиваемого за

Таким образом с диффузионно-переносный его перенос могут служить объектами DO_2 . Изучая [22] обнаружили, что DO_2 по сравнению

ленном изменении эффективных коэффициентов DO_2 в тканях при алиментарном воздействии жирами, трудно достаточно полно объяснить лишь на основании «теории изменения обводненности».

Нельзя не учитывать тот факт, что употребление в пищу жиров приводит к изменению структуры тканей в отношении транспорта O_2 и прежде всего биологических мембран [1, 2]. С одной стороны, несмотря на диффузионные ограничения, вызванные наличием мембран, как более плотных структур на пути кислорода, они способствуют предельно возможному ускорению превращения веществ с резкой

Изменения эффективных коэффициентов диффузии кислорода в мышце (А) и подкожной области (Б) молодых (светлые столбики) и взрослых (заштрихованные столбики) крыс при алиментарном воздействии растительными жирами (% к контролю): а — жиры с преобладанием насыщенных, б — ненасыщенных жирных кислот. * $P < 0,05$.



экономией каталитического вещества в гетерогенной среде по отношению к гомогенной среде [13, 14]. С другой, — можно предположить наличие значимых для транспорта активных процессов со стороны тканевых структур, способствующих распределению кислорода. Работающие ферменты, сократительные белки могут образовывать многомолекулярные ансамбли с синхронным (конформационным) движением, в результате которого происходит активное перемещение среды, эквивалентное существенному ускорению диффузии [13].

В наших микроэлектродных измерениях профиля концентрации O_2 в одиночных клетках [2] и цитоспектрометрических исследованиях, проведенных Jones и Mason [20], не обнаружено равномерной диффузионной картины распределения кислорода. Следовательно, биологические свойства живого не только находят свое отображение в диффузионных моделях, но и вступают с ними в противоречие. Во-первых, пространство между капиллярами, да и отдельные клетки не являются гомогенными, а представляют собой в высшей мере гетерогенные образования в отношении транспорта и растворимости кислорода. Во-вторых, живые системы нельзя представить как неподвижную физическую диффузионную среду с присущим ей молекулярным переносом веществ только за счет теплового движения молекул. Существование броуновского движения в эукариотической клетке, как видимого отражения молекулярной диффузии, — признак ее гибели [11]. Живая клетка определенным образом ориентирует свои органеллы и субклеточные частицы, и все в ней находится в состоянии направленного движения, поддерживаемого за счет метаболизма [6].

Таким образом, реально предположить, что в живой ткани наряду с диффузионным перемещением кислорода существует трансляционный его перенос движением самой среды. Подтверждением этого могут служить обнаруженные нами вариации эффективных коэффициентов DO_2 . Изучая в ячейке дыхание кусочков ткани, Longmuir и Bourke [22] обнаружили более высокие значения эффективных коэффициентов DO_2 по сравнению с ожидаемыми. На основании этих данных они

высказали предположение о существовании активного тканевого процесса в дышащей ткани по отношению к транспорту кислорода.

Приведенные выше рассуждения и результаты экспериментальных исследований позволяют заключить, что для живых клеток и тканей теряется физический смысл коэффициента диффузии. Судить об эффективности транспорта веществ в живых системах можно лишь по некоторым реальным коэффициентам переноса, обеспечивающим в каждом случае наиболее эффективный обмен веществ и отражающим биологическое движение материи. В этом смысле такими характеристиками транспорта O_2 в тканях служили эффективные коэффициенты диффузии кислорода, измерению которых посвящена данная статья.

Выводы

1. Обнаружены различия средних значений эффективных коэффициентов диффузии кислорода в тканях крыс разного возраста. Исследуемые ткани молодых животных являются более однородными по отношению к транспорту кислорода, чем ткани взрослых животных.

2. При добавлении к обычному пищевому рациону крыс растительных жиров происходят разнонаправленные изменения эффективных коэффициентов диффузии кислорода в тканях животных разного возраста. Направление изменений для каждого возраста зависит от насыщенности жиров и вида ткани.

B. S. Sushko

VARIATIONS OF EFFICIENT OXYGEN DIFFUSIVITIES IN TISSUES OF DIFFERENT-AGE RATS AS AFFECTED BY AGE AND ALIMENTARY FACTORS

A method intended to record and analyze kinetics of decrease in the initial part of current on platinum diffusion oxygen sensor has been used to estimate efficient oxygen diffusivities (D_{O_2}) to the working surface of sensor in the muscular tissue and in tissue of the subcutaneous area of posterior extremities in anesthetized rats of different age in control and after addition of plant fats with various content of saturated fatty acids to their usual ration. It is shown that average value of D_{O_2} in the muscular tissue of young animals is higher than in the muscle of adult animals. In adult animals D_{O_2} of the subcutaneous area is higher than that of the muscle. There are no significant differences of coefficients in the examined tissues of young animals. Addition of plant fats to the basal food ration causes differently directed changes of D_{O_2} in tissues of young and adult animals. These changes depend on the tissue of animal and saturation of fats. A problem on the existence of translation transfer of substances parallel with diffusion one in live tissues is under discussion.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Березовский В. А., Сушко Б. С. Влияние диет с различным содержанием насыщенных и ненасыщенных жирных кислот на диффузию кислорода в мышечной ткани // Физиол. журн. — 1986. — 32, № 4. — С. 492—495.
2. Березовский В. А., Сушко Б. С. Профиль концентрации кислорода в клетке и некоторые спорные вопросы перемещения свободного кислорода в биологических объектах // Там же. — 1984. — 30, № 3. — С. 345—355.
3. Буланкин И. Н. Физическая и коллоидная химия. — Харьков: Изд-во Харьков. ун-та, 1959. — 355 с.
4. Делимарский Ю. К., Скобец Е. М. Полярография на твердых электродах. — Киев: Техника, 1970. — 220 с.
5. Иванов К. П., Кисляков Ю. Я. Энергетическое потребление и кислородное обеспечение головного мозга. — Л.: Наука, 1979. — 215 с.
6. Каппуччинелли П. Подвижность живых клеток. — М.: Мир, 1982. — 126 с.

7. Кольтгофф И. 573 с.
8. Лопатина Н. И.
9. Сушко Б. С. А. редения коэф № 1. — С. 113—
10. Филиппов Л. П.
11. Фултон А. Ци 120 с.
12. Хмелевский Ю. в номере и при
13. Шноль С. Э. 1979. — 263 с.
14. Шноль С. Э., А ционный смысл ретические проб
15. Шошенко К. А. особенности ки жения рыб. — Н
16. Bryant S. C., J pulmonary capil
17. Clark D. K., E and solubility York: Plenum P
18. Erdman W., Kr des // Oxygen ti P. 225—228.
19. Himmelblau D. 64, N 4. — P. 52
20. Jones D. F., Ma 253, N 14. — P.
21. Kazunori K., Na barrier in erytro J. Physiol. — 198
22. Longmuir J. S., ring tissue // Bio
23. McCabe M., Ma ture. — 1967. — 21
24. Morawetz R., St in the brain cor
25. Vaupl P. Effect coefficients of O

Ин-т физиологии им
АН УССР, Киев

УДК 576.31:612.112.93/9

И. С. Никольский, .

Структуры кл в мастолимфо

Ранее мы обна
и лимфоцитов о
фоцитов (МАЛ)
vitro в образов
гетерозеритроцит
тучными клетка
ются главным с
соединять лимф
метода диффер
позволяет пред
тате взаимодейс

© и. с. никольски

Физиол. журн., 19

7. Кольгофф И. М., Лингейн Д. Дж. Полярография. — М.: Гостехиздат, 1948. — 573 с.
8. Лопатина Н. И., Возрастная биохимия. — Л.: Наука, 1978. — 44 с.
9. Сушко Б. С. Автоматизированный метод прижизненного полярографического определения коэффициента диффузии кислорода в ткани // Физиол. журн. — 1988. — 34, № 1. — С. 113—118.
10. Филиппов Л. П. Явление переноса. — М.: Изд-во МГУ, 1986. — 120 с.
11. Фултон А. Цитоскелет: Архитектура и хореография клетки. — М.: Мир, 1987. — 120 с.
12. Хмелевский Ю. В., Усатенко О. К. Основные биологические константы человека в номере и при патологии. — К.: Здоровье, 1984. — 120 с.
13. Шноль С. Э. Физико-химические факторы биологической эволюции. — М.: Наука, 1979. — 263 с.
14. Шноль С. Э., Ермакова Е. А., Франк Г. М. Диффузионные ограничения и эволюционный смысл образования внутриклеточных структур // Методологические и теоретические проблемы биофизики. — М.: Наука, 1979. — С. 90—99.
15. Шошенко К. А., Баранов В. И., Голубь А. С. и др. Органное кровоснабжение и особенности кислородного транспорта в мышцах // Исследования энергетики движения рыб. — Новосибирск: Наука, 1984. — С. 78—115.
16. Bryant S. C., Navari R. M. Effect of plasma proteins on oxygen diffusion in the pulmonary capillaries // Microvasc. Res. — 1974. — 7, N 1. — P. 120—130.
17. Clark D. K., Erdman W., Halsey J. H., Strong E. Oxygen diffusion, conductivity and solubility in the microarea of the brain // Oxygen transport to tissue. — New York: Plenum Publish Comp., 1978. — P. 697—704.
18. Erdman W., Krell W. Measurement of diffusion parameters with noble metal electrodes // Oxygen transport to tissue. — New York: Plenum Publish Comp., 1976. — P. 225—228.
19. Himmelblau D. M. Diffusion of dissolved gases in liquids // Chem. rev. — 1964. — 64, N 4. — P. 527—550.
20. Jones D. F., Mason H. S. Gradients of concentration in hepatocytes // J. biol. chem. — 1953, N 14. — P. 4874—4880.
21. Kazunori K., Nobuji M., Misuzu S. et al. A method for studying oxygen diffusion barrier in erythrocytes: effects of haemoglobin content and membrane cholesterol // J. Physiol. — 1980. — 309, N 7. — P. 569—590.
22. Longmuir J. S., Bourke A. The measurement of the diffusion oxygen through respiring tissue // Biochem. J. — 1960. — 76, N 2. — P. 225—229.
23. McCabe M., MacDougall J. B. Diffusion coefficient of oxygen through tissues // Nature. — 1967. — 215, N 5104. — P. 1173—1174.
24. Morawetz R., Strong L. H., Clark D. K. Effects of ischemia on the oxygen coefficients in the brain cortex // Adv. exp. Med. and Biol. — 1978. — 94. — P. 629—632.
25. Vaupl P. Effect of percentual water content in tissues and liquids on the diffusion coefficients of O₂, CO₂ and H₂. — Pflüg. Arch. 1976. — 361, N 3. — P. 201—204.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 16.03.90

УДК 576.31:612.112.93/94

И. С. Никольский, Л. П. Маевская

Структуры клеточной мембраны, участвующие в мастолимфоцитарном взаимодействии

Ранее мы обнаружили, что плазматические мембраны тучных клеток и лимфоцитов определенного типа, в частности мастоцитарных лимфоцитов (МАЛ), обладают взаимным сродством, что проявляется *in vitro* в образовании мастолимфоцитарных розеток (МЛР) [2]. Гомо- и гетероэритроциты, макрофаги, фибробласты и клетки HeLa розеток с тучными клетками не образуют. В норме у животных МАЛ локализируются главным образом в тимусе [3]. Способность тучных клеток присоединять лимфоциты лишь определенного типа положена в основу метода дифференциальной диагностики гемобластозов [6]. Изложенное позволяет предположить, что образование МЛР происходит в результате взаимодействия мембранных структур лимфо- и мастоцитов, иссле-

© И. С. НИКОЛЬСКИЙ, Л. П. МАЕВСКАЯ, 1991.