

УДК 577.352.4:611.018.51

БІОФІЗИКА КЛІТИНИ

ИЗМЕНЕНИЕ ФОРМЫ ЭРИТРОЦИТА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПРОДАВЛИВАНИИ ЧЕРЕЗ ЦИЛИНДРИЧЕСКИЙ МИКРОКАПИЛЛЯР

Л.И. Гардаш, Е.А. Гордиенко

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, ул. Переславская, 23, 310015

Поступила в редакцию 15 февраля 1999 г.

На основе простых физических и геометрических соображений проведен анализ изменения формы эритроцита человека в процессе его продавливания через цилиндрический микрокапилляр. Получены уравнения, описывающие эту форму в том случае, когда мембрана клетки деформируется без изотропного растяжения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эритроцит человека, деформация, микрокапилляр, форма мембраны.

Продавливание эритроцитов в цилиндрическую пипетку с диаметром, не превышающим их характерный размер, приводит к деформации клеточных мембран и к изменению формы клеток. Очевидно, этот процесс может быть использован для определения механических свойств их мембран [1,2]. Для того, чтобы количественно описать указанный процесс на основе уравнений теории упругости и гидродинамики, необходимо задать граничные условия не только на поверхности, ограничивающей продавливаемую через микропипетку клеточную суспензию, но и на поверхности клеточной мембраны. Задание же граничных условий на поверхности клеточной мембраны предполагает, что уравнения, которые описывают изменяющуюся в процессе продавливания через микропипетку форму мембраны, известны. Вообще говоря, форма продавливаемой через микрокапилляр клетки должна определяться сама собой путем совместного решения соответствующих уравнений теории упругости и гидродинамики. Однако, в настоящее время строгий самосогласованный подход, за исключением простейших случаев, не разработан. Решение задачи о продавливании эритроцита через микрокапилляр можно значительно облегчить, если знать, как изменяется форма эритроцита в течение указанного процесса, исходя из каких-либо независимых физических соображений. В этом случае можно было бы считать форму продавливаемого через микрокапилляр эритроцита известной заранее, и физико-математический анализ исследуемого процесса значительно упростился бы.

Цель нашей статьи - получить приближенные аналитические выражения для формы поверхности мембраны, продавливаемой через микрокапилляр, исходя из простых геометрических и физических соображений. Мы ограничимся случаем, когда в процессе продавливания через микрокапилляр клеточная мембрана деформируется либо путем сдвига в плоскости мембраны, либо изгибается, но не путем изотропного растяжения. Как известно [3], при первых двух из перечисленных типов деформации площадь поверхности мембраны S не изменяется и в каждый момент времени остается равной ее начальному значению S_0 . Объем также можно считать практически неизменным и равным его первоначальному значению V_0 , так как трансмембранный перепад давления, который мог бы привести к обезвоживанию клеток, при рассматриваемых нами типах деформации пренебрежимо мал.

Эритроцит легко изменяет свою форму в потоке жидкости без существенной деформации его мембраны. Поэтому с учетом осевой симметрии и расположений линий тока при стационарном потоке жидкости через микрокапилляр разумно предположить, что уже при подходе ко входному отверстию микрокапилляра он принимает парашютообразную форму (рис. 1). Как показывают визуальные наблюдения [4], именно такую форму принимают эритроциты при движении в микрокапиллярной системе кровяного русла. Форма эритроцита, показанная на рис.1, образована зеркальным выпучиванием части сферы радиуса R_0 ABC относительно плоскости AC . Здесь ось z цилиндрических координат z, ρ, φ совпадает с осью симметрии цилиндрического микрокапилляра.

Реально, конечно, на границе области выпучивания

$\rho = \sqrt{R_0^2 - (R_0 - H_0)^2}$ кривизна мембраны изменяется не скачкообразно, а плавно, как показано на

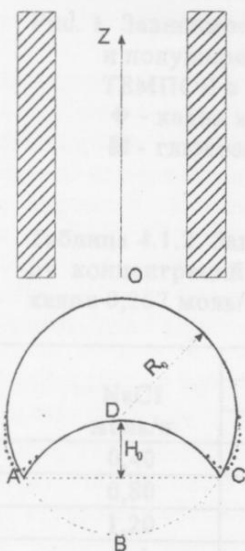


Рис. 1. Форма эритроцита, приближающегося ко входному отверстию микрокапилляра $\rho \leq r_p, z = 0$ (r_p - радиус микрокапилляра, ρ, z - цилиндрические координаты)

Изменение формы эритроцита при продавливании через микрокапилляр

рис. 1 точечной линией. Однако, мы считаем, что это обстоятельство не существенно сказывается на полученных нами далее результатах.

Значения площади поверхности мембраны и объема парашютообразного эритроцита в отсутствие деформации легко определить по известным формулам для шаровых сегментов:

$$S_0 = 4\pi R_0^2, \quad (1)$$

$$V_0 = \frac{2\pi}{3} H_0^3 - 2\pi H_0^2 \left(\frac{S_0}{4\pi} \right)^{1/2} + \frac{1}{6\sqrt{\pi}} S_0^{3/2}$$

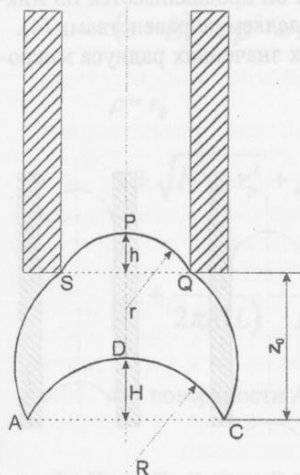


Рис. 2. Форма эритроцита, втягиваемого в микрокапилляр при $R_0 - \sqrt{R_0^2 - r_p^2} < h < r_p$

Как известно, для эритроцита человека в недеформированном состоянии в среднем $S_0 = 129.95 \text{ мкм}^2$, $V_0 = 97.91 \text{ мкм}^3$. При таких начальных значениях из (1) определяем $R_0 = 3.216 \text{ мкм}$, $H_0 = 1.563 \text{ мкм}$. Эти значения однозначно определяют форму эритроцита при подходе ко входному отверстию в микрокапилляр.

После того, как эритроцит перекрывает входное отверстие в микрокапилляр, часть его мембраны затягивается в него, формируя сферическую "шапочку" SPQ (рис. 2). Радиус этой "шапочки" r , очевидно, со временем изменяется от значения $r = R_0$ до $r = r_p$, где r_p - радиус микрокапилляра, а высота этой "шапочки" h изменяется от значения $h = R_0 - \sqrt{R_0^2 - r_p^2}$ до значения $h = r_p$.

По мере затягивания клетки в микрокапилляр высота H зеркально выпукленного сегмента ADC и радиуса R сферической поверхности, образованной вращением вокруг оси z дуги кривой AS или CQ, уменьшается. Как подчеркивалось ранее, при рассматриваемых типах деформации площадь поверхности клеточной мембраны и объем клетки не изменяются. Поэтому из простых геометрических соображений для площади поверхности шаровых сегментов и шаровых слоев находим:

$$S_0 = 2\pi R^2 + 2\pi R \sqrt{R^2 - r_p^2} + \pi(r_p^2 + h^2), \quad (2)$$

$$V_0 = \frac{4}{3}\pi R^3 - \frac{2}{3}\pi H^2(3R - H) + \frac{1}{6}\pi h(3r_p^2 + h^2) - \frac{\pi}{3}(R - \sqrt{R^2 - r_p^2})^2(2R + \sqrt{R^2 - r_p^2})$$

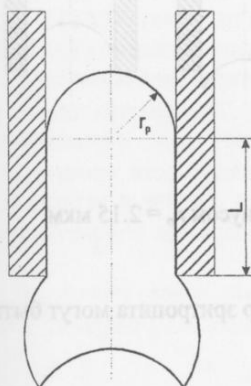


Рис. 3. Форма эритроцита, втягиваемого в микрокапилляр при $L \neq 0$

Соотношения (2) в неявном виде задают форму втягиваемого в микропипетку эритроцита, которая однозначно определяется параметрами h , R и H в зависимости от значения одного из них, например, h .

В момент, когда высота сферической "шапочки" достигает значения $h = r_p$ радиус R дуги AS и CQ и высота зеркально выпукленного участка мембраны H , очевидно, определяются системой алгебраических равенств (2) при $h = r_p$. Начиная с этого момента образовавшаяся при втягивании эритроцита в микрокапилляр сферическая "шапочка" с радиусом r_p начинает продавливаться внутрь капилляра. При этом часть мембраны эритроцита принимает цилиндрическую форму $\rho = r_p$, $0 \leq z \leq L$ (рис. 3).

Условия постоянства площади поверхности мембраны и объема клетки теперь принимают вид

$$S_0 = 2\pi r_p^2 + 2\pi r_p L + 2\pi R^2 + 2\pi R \sqrt{R^2 - r_p^2}, \quad (3)$$

$$V_0 = \frac{2}{3}\pi r_p^3 + \pi r_p^2 L + \frac{4}{3}\pi R^3 - \frac{2}{3}\pi H^2(3R - H) - \frac{\pi}{3}(R - \sqrt{R^2 - r_p^2})^2(2R + \sqrt{R^2 - r_p^2})$$

Соотношения (3) полностью определяют форму втягиваемого в микрокапилляр эритроцита, то есть параметры L , R и H как функции одного из них, например, L , начиная с момента, при котором достигается равенство $h = r_p$. Очевидно, при $R = r_p$, то есть при выполнении условий

$$S_0 = 2\pi r_p L + 4\pi r_p^2, \quad (4)$$

$$V_0 = \frac{4}{3}\pi r_p^3 + \pi r_p^2 L - \frac{2}{3}\pi H^2(3r_p - H)$$

форма продавливаемого через микрокапилляр эритроцита стабилизируется и он продавливается по микрокапилляру как целое, имея форму, то есть значения параметров L и H , определяемую равенствами (4).

На рис. 4 и 5 показана динамика изменения формы эритроцита при двух значениях радиуса микрокапилляра r_p , вычисленная с помощью приведенных выше формул.

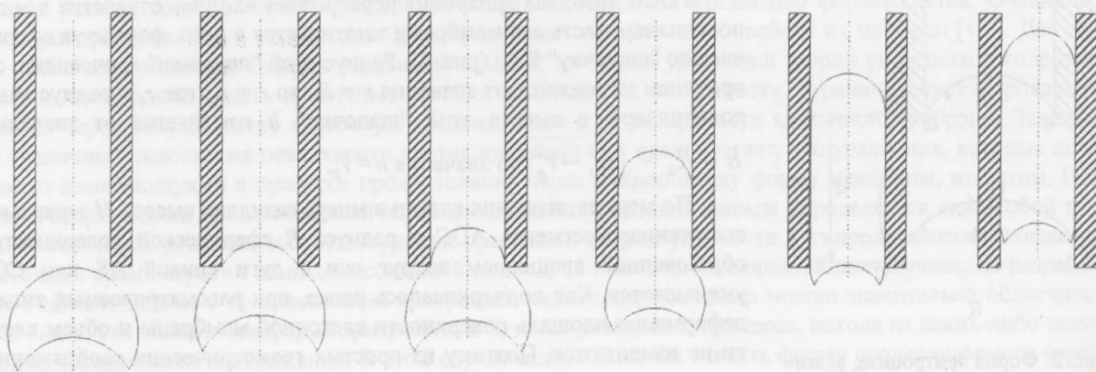


Рис. 4. Динамика изменения формы эритроцита, втягиваемого в микрокапилляр радиусом $r_p = 1.85$ мкм.

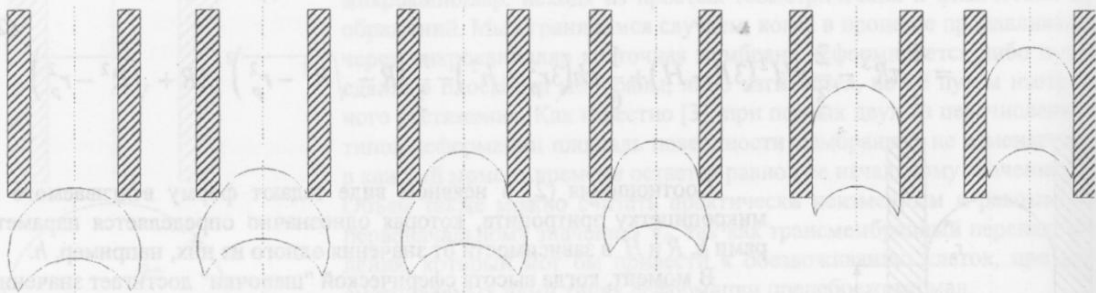


Рис. 5. Динамика изменения формы эритроцита, втягиваемого в микрокапилляр радиусом $r_p = 2.15$ мкм.

Очевидно, уравнения поверхности мембраны втягиваемого в микрокапилляр эритроцита могут быть представлены в следующем виде:
на стадии формирования сферической «шапочки» —

$$r(h) = \frac{(z+h)^2 + \rho^2}{2(z+h)}, \text{ при } z \geq 0 \quad (5)$$

на поверхности CQ (рис. 2) —

$$\rho^2 + z^2 + 2z\sqrt{R^2(h) - r_p^2} = r_p^2 \quad (6)$$

и

$$\left(z - \frac{z}{R}h + \frac{S_0}{2\pi R}\right)^2 + 2R\left(z - \frac{z}{R}h + \frac{S_0}{2\pi R}\right) + \rho^2 = 0 \quad (7)$$

на поверхности ADC (рис. 2), где зависимости $R(h)$ и $H(h)$ определяются равенствами (2).

При $L \neq 0$:

$$(z - L)^2 + \rho^2 = r_p^2 \quad \text{при } z \geq L, \quad (8)$$

$$\rho = r_p \quad \text{при } L \geq z \geq 0, \quad (9)$$

$$z + \sqrt{R^2 - r_p^2} + \rho^2 = R^2 \quad \text{для поверхности CQ (рис. 2),} \quad (10)$$

$$\left(z + \frac{S_0}{2\pi R(L)} - \frac{r_p^2}{R(L)} - \frac{r_p}{R(L)}L\right)^2 + 2zR(L) + \frac{S_0}{2\pi} - 2r_p^2 - 2r_pL + \rho^2 = 0 \quad (11)$$

для поверхности ADC, где зависимости $R(L)$ и $H(L)$ определяются равенствами (3).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ивенс И., Скейлак Р. Механика и термодинамика биологических мембран. М. Мир, 1982. 304с.
2. Zhelev D.V., Needham R.M.// Biophys.J. 1994. V.67. №6. P.720-727.
3. Гордиенко Е.А., Пушкарь Н.С. Физические основы низкотемпературного консервирования клеточных суспензий. К. Наук.думка, 1994. 143с.
4. Chien S. The red blood cell. N.-Y., San-Fr., L. Academic Press, 1975. V.2. P.1031-1133.

УДК 577.352.336+577.356

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ДИЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ ПРОНИЦАЕМОСТЬ СУСПЕНЗИИ ТРОМБОЦИТОВ В 3-СМ ДИАПАЗОНЕ ДЛИН ВОЛН

В.П. Берест, С.В. Гаташ, О.Т. Николов

Харьковский государственный университет, пл. Свободы, 4, 310077;

Поступила в редакцию 22 октября 1998 г.

Методом СВЧ-диэлектрметрии исследованы зависимости диэлектрической проницаемости и частоты диэлектрической релаксации воды в суспензии тромбоцитов и плазмы крови человека от температуры в области 4–42°C. Рассчитана энтальпия активации диэлектрической релаксации молекул воды и получены зависимости статической диэлектрической проницаемости относительно “растворителя” для этих систем. Показано, что наблюдаемые особенности зависимостей диэлектрических параметров от температуры связаны с конформационными перестройками белков плазмы и мембран тромбоцитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тромбоциты, плазма крови, фибриноген, СВЧ-диэлектрметрия, диэлектрическая проницаемость, диэлектрическая релаксация, энтальпия, температура.

В настоящее время нет достаточной ясности в механизмах, определяющих зависимости параметров агрегации тромбоцитов от температуры. В области температур 4–45°C отмечается ряд перестроек тромбоцитарных мембран, регистрируемых различными методами [1, 2]. Очевидно, значительные структурные переходы мембран должны затрагивать гидратную оболочку клетки и сопровождаться изменением диэлектрических параметров суспензии клеток. Структурные перестройки мембран влекут за собой изменение соотношения свободная-связанная вода. Именно это изменение и регистрируется методом СВЧ-диэлектрметрии в области дисперсии молекул воды. Для выяснения молекулярных механизмов функционирования клеток в области физиологических температур и процессов, развивающихся при их хранении необходимы исследования состояния воды в мембранах.

В настоящей работе исследована температурная зависимость диэлектрической проницаемости и частоты диэлектрической релаксации плазмы крови и обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) в интервале температур 4–42°C.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использована обогащенная тромбоцитами плазма 5 здоровых доноров. ОТП выделяли из стабилизированной цитратом натрия крови путем центрифугирования в течение 10 мин при 167g, безтромбоцитарную плазму (БТП) – центрифугированием ОТП в течение 15 мин при 1100g [3]. Концентрация тромбоцитов составляла $2,5 \cdot 10^5$ кл/мм³.

Измерение зависимости диэлектрической проницаемости от температуры (в области от 4 до 42°C) проводилось с помощью СВЧ-диэлектрметра резонаторного типа, работающего на частоте 9,2 ГГц [4]. Исследуемый образец в объеме 0,1 мл в тонком кварцевом капилляре (внутренний диаметр 1,0 мм) помещался в цилиндрический резонатор Н₀₁₁-типа. Резонатор снабжен термостабилизирующей оболочкой и системой термостабилизации с точностью поддержания температуры $\pm 0,1^\circ\text{C}$. Температура образца измерялась медь-константановой термопарой, помещенной внутрь капилляра. Для определения действительной (ϵ') и мнимой (ϵ'') частей комплексной диэлектрической проницаемости измерялась величина сдвига резонансной частоты и затухания СВЧ-мощности при внесении образца в резонатор. Значения ϵ' и ϵ'' находили используя градуировочные кривые, построенные для образцов с известными значениями ϵ' и ϵ'' [5]. Ошибка определения ϵ' составляла около 0,05%, а ϵ'' – 0,5%.

Исследуемая среда имеет значительные низкочастотные потери из-за наличия ионов, поэтому для исключения вклада ионной проводимости в измеренную величину ϵ'' вводилась поправка на электропроводность

$$\epsilon'' = \epsilon''_{\text{изм}} - \frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0 f}, \quad (1)$$

где σ — удельная электропроводность образца, $\text{ом}^{-1} \cdot \text{м}^{-1}$, ϵ_0 — постоянная электрического поля, равная $8,854 \cdot 10^{-12}$ А·с·В⁻¹·м⁻¹, f — частота измерения ϵ'' , Гц. Поскольку ионная проводимость очень слабо зависит от длины волны, ее величину измеряли на частоте 10 кГц с помощью моста переменного тока Р586 в ячейке с платиновыми электродами [6]. Погрешность определения σ составляла ~5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Измеренные на частоте 9,2 ГГц, диэлектрические параметры ОТП характеризуют состояние ее водной фазы. Вода обладает высокой диэлектрической проницаемостью ввиду наличия у ее молекулы постоянного электрического дипольного момента (1,8 D). Диэлектрическая релаксация большей части внутриклеточной воды описывается уравнениями Дебая с центральной частотой дисперсии около 20 ГГц (при 20-25°C). При этом параметр характеризующий разброс времен диэлектрической релаксации молекул воды достаточно мал – 0,038 [5]. Дисперсия диэлектрической проницаемости других компонентов ОТП наблюдается на частотах <0,5 ГГц [7]. Поэтому по величине диэлектрической проницаемости дисперсных биологических систем в СВЧ-диапазоне можно судить о состоянии и подвижности воды в структурных компонентах системы.

Частотная зависимость комплексной диэлектрической проницаемости диполей в жидкостях описывается уравнением Дебая:

$$\varepsilon(f) = \varepsilon_{\infty} + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_{\infty}}{1 + if/f_d}, \quad (2)$$

где ε_{∞} и ε_s – высокочастотная (оптическая) и статическая диэлектрическая проницаемости; f_d и f – частоты диэлектрической релаксации и микроволнового поля, соответственно.

Разделяя действительную и мнимую части уравнения (2) в соответствии с

$$\varepsilon = \varepsilon'(f) + i\varepsilon''(f) \quad (3)$$

получим

$$\varepsilon'(f) = \varepsilon_{\infty} + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_{\infty}}{1 + (f/f_d)^2}, \quad (4)$$

$$\varepsilon''(f) = \frac{(\varepsilon_s - \varepsilon_{\infty})f/f_d}{1 + (f/f_d)^2}. \quad (5)$$

Из уравнений (4) и (5) можно получить выражения для f_d и ε_s :

$$f_d = f(\varepsilon' - \varepsilon_{\infty}) / \varepsilon'', \quad (6)$$

$$\varepsilon_s = \varepsilon' + \frac{(\varepsilon'')^2}{(\varepsilon' - \varepsilon_{\infty})}. \quad (7)$$

Величина ε_{∞} не зависит от частоты и тем меньше, чем больше концентрация раствора, то есть чем больше количество связанной воды. Параметр f_d характеризует подвижность молекул воды в поле СВЧ, а, следовательно, степень ее взаимодействия с окружением. Значения ε_s и f_d находили по формулам (6)-(7), принимая $\varepsilon_{\infty} = 5,5$ (как диэлектрическую проницаемость в ИК-диапазоне) [8].

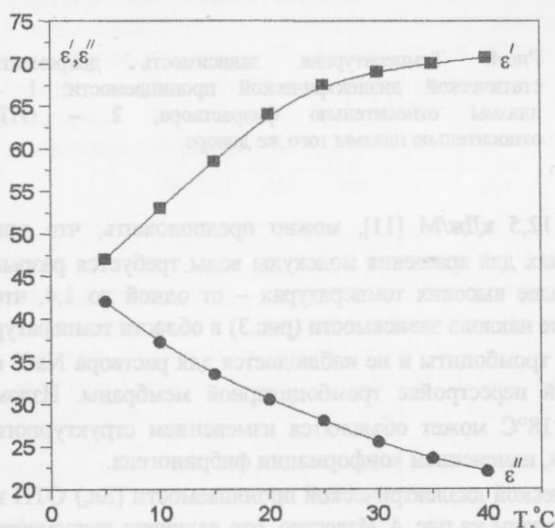


Рис.1. Температурные зависимости действительной (ε') и мнимой (ε'') частей диэлектрической проницаемости 0,15M раствора NaCl.

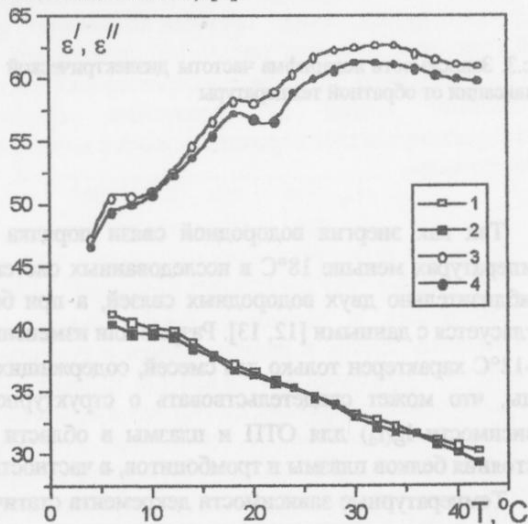


Рис.2. Температурные зависимости действительной (ε') и мнимой (ε'') частей диэлектрической проницаемости. 1,2 – ОТП; 3,4 – БТП.

Температурные зависимости ϵ' и ϵ'' воды и 0,15 М NaCl не имеют особенностей во всем исследованном интервале температур. Наблюдается плавное увеличение ϵ' и уменьшение ϵ'' при повышении температуры (рис.1). Температурные зависимости ϵ' и ϵ'' плазмы крови и ОТП имеют ряд особенностей, выражающихся в отклонении от монотонности зависимостей этих параметров при определенных температурах (см. рис.2). При повышении температуры наблюдается ступенчатообразное изменение ϵ' и ϵ'' ОТП и плазмы в области температур 8-10°C, 18-22°C и 32-36°C. По-видимому, причиной этого являются структурные перестройки мембран тромбоцитов и белков плазмы, отмеченные нами ранее [2, 9].

Температурная зависимость частоты диэлектрической релаксации, которую можно представить выражением $f_d = A e^{-\Delta H/kT}$ (A – коэффициент, независящий от температуры, k – постоянная Больцмана), дает возможность определить энтальпию процесса диэлектрической релаксации ΔH путем вычисления тангенса угла наклона в координатах $\ln(f_d) - 1/T$ для каждого линеаризованного участка отдельно [10]. Зависимости для дистиллированной воды и физраствора линейны. Для плазмы и ОТП при температурах ступенчатообразных изменений $\epsilon'(T)$ и $\epsilon''(T)$ зависимости $\ln(f_d)$ от $1/T$ имеют разрывы или изломы (рис.3). Самое значительное изменение наклона зависимости для ОТП наблюдается в области 18-20°C с увеличением энтальпии активации от 7,9 кДж/моль до 13,8 кДж/моль.

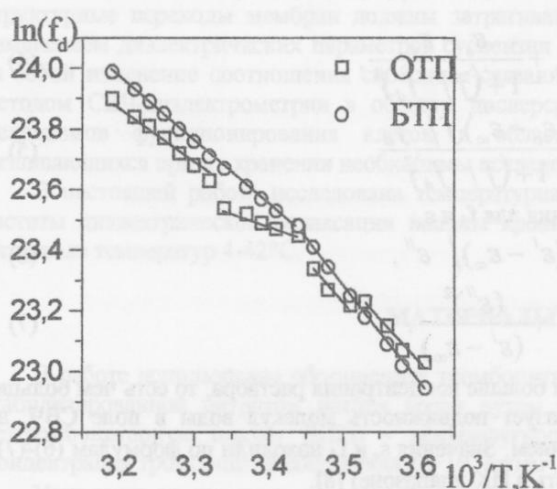


Рис.3. Зависимость логарифма частоты диэлектрической релаксации от обратной температуры

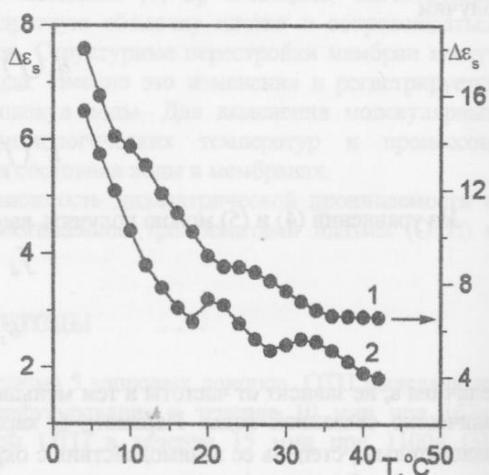


Рис.4. Температурная зависимость декремента статической диэлектрической проницаемости: 1 – плазмы относительно физраствора, 2 – ОТП относительно плазмы того же донора.

Так как энергия водородной связи порядка 12,5 кДж/М [11], можно предположить, что при температурах меньше 18°C в исследованных системах для вращения молекулы воды требуется разрыв приблизительно двух водородных связей, а при более высоких температурах – от одной до 1,4, что согласуется с данными [12, 13]. Разрыв или изменение наклона зависимости (рис.3) в области температур 10-12°C характерен только для смесей, содержащих тромбоциты и не наблюдается для раствора NaCl и воды, что может свидетельствовать о структурной перестройке тромбоцитарной мембраны. Излом зависимости $\lg(f_d)$ для ОТП и плазмы в области 18°C может объясняться изменением структурного состояния белков плазмы и тромбоцитов, в частности, изменением конформации фибриногена.

Температурные зависимости декремента статической диэлектрической проницаемости ($\Delta\epsilon_s$) ОТП и плазмы крови относительно «растворителя» представлены на рис. 4. Известно, что величина декремента раствора относительно растворителя пропорциональна концентрации и степени гидратации растворенного вещества. Монотонное уменьшение $\Delta\epsilon_s$ плазмы относительно физраствора при повышении температуры хорошо коррелирует с известным фактом уменьшения степени гидратации белков с ростом температуры [14]. Так как концентрация и объем тромбоцитов с ростом температуры не

меняются, можно допустить, что температурозависимые изменения $\Delta\epsilon$, ОТП определяются степенью связывания воды клетками. Поэтому уменьшение $\Delta\epsilon$ при нагревании ОТП от 4 до 18°C свидетельствует об уменьшении гидратации, а небольшой рост $\Delta\epsilon$, 18-20°C и 28-32°C – об ее увеличении. Увеличение количества свободной воды в суспензии тромбоцитов сопровождается общим увеличением ϵ' (величина $d\epsilon'/dT$ уменьшается).

ЛИТЕРАТУРА

1. Кубатиев А.А., Руденко Т.С., Черниховская Т.И., Супкевич Г.Н., Жданов Р.И. // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1993. Т. 115, № 1. С. 15-17.
2. Берест В.П., Морозова Т.Ф., Гаташ С.В. // Вісн. Харк. ун-ту. 1998. №422. Біофізичний. вісн. Вип. 2. С. 45-48.
3. Самаль А.Б., Черенкевич С.Н., Хмара Н.Ф. Агрегация тромбоцитов: Методы изучения и механизмы. Минск: Университетское. 1990. 104 с.
4. Николов О. Т., Жилякова Т. А. // Журн. физ. химии. 1991. Т. 65, №5. С. 1417-1420.
5. Шахпаронов М.И., Ахадов Ю.Я. // ЖСХ. 1965. Т. 6, №1. С. 21-26.
6. Кашпур В.А., Малеев В.Я., Щеголева Т.Ю. // ДАН СССР. 1974. Т. 215, №1. С. 218-220.
7. Mashimo S., Kuwabara S., Yagihara S., Higasi K. // J. Phys. Chem., 1987. V. 91, N 25. P. 6337-6338.
8. Казанский В.Б., Степин Л.Д., Ткач // Биофизика. 1963. Т. 8, вып. 1. С. 112-116.
9. Берест В.П., Гаташ С.В., Морозова Т.Ф. // Вісн. Харк. ун-ту. 1998. №410. Біофізичний. вісн. Вип. 1. С. 71-74.
10. Шахпаронов М.И. Методы исследования теплового движения молекул и строения жидкостей. М.: Изд-во МГУ. 1963. 282 с.
11. Гордон Д. Органическая химия растворов электролитов. М.: Мир. 1979. 712 с.
12. Антонченко В.Я. Микроскопическая теория воды в порах мембран. Киев.: Наукова думка. 1983. 160 с.
13. Белая М.Л., Левадный В.Г. Молекулярная структура воды. М.: Знание. 1987. 64 с.
14. Жилякова Т.А., Морозова Т.Ф., Николов О.Т. // Физико-химические процессы в криобиологических системах: Сб. науч. трудов. Харьков. Ин-т проблем криобиологии и криомедицины. 1991. С. 45-55.

СТОХАСТИЧЕСКАЯ ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ КЛОНА ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИХСЯ КЛЕТОК. ЭФФЕКТЫ АВТОСЕЛЕКЦИИ И ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ

Г.И.Соляник, А.А.Сериков

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии НАН Украины, Киев-22, Васильковская 45,
e-mail: fartm@iepor.kiev.ua; Институт теоретической физики НАН Украины, Киев-143, Метрологическая.*

Поступила в редакцию 26 ноября 1998 г.

Проблема регуляции процессов дифференциации и пролиферации исследовалась с помощью стохастической модели динамики роста клона нормальных клеток. Было показано, что в гетерогенной клеточной популяции процесс дифференциации, реализующийся посредством факторов дифференцировки, может вызывать селекцию (автоселекцию) активно пролиферирующих и нечувствительных к действию этих факторов клеток (т.е. клеток, обладающих опухолевым фенотипом). Прогрессия клона нормальных клеток в направлении увеличения числа клеток с опухолевым фенотипом может рассматриваться как возможный механизм возникновения злокачественных опухолей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гетерогенность клеточных популяций, явление автоселекции, канцерогенез.

Развитие и функционирование многоклеточных организмов и отдельных его органов невозможно без регуляции процессов клеточного деления (пролиферации) и дифференциации. Именно взаимная регуляция этих двух процессов обуславливает, с одной стороны, сужение клеточных потенций в процессе эмбриогенеза и, с другой стороны, обеспечивает восстановление клеточного состава и пространственной структуры тканей в репаративных процессах у взрослых особей. Считается, что нарушения такой регуляции лежат в основе многих патологических процессов в организме таких, в частности, как возникновение опухолей [1].

К сожалению в настоящий момент нет единой точки зрения на механизмы регуляции процессов дифференциации и пролиферации. Некоторые авторы отдают предпочтение концепции генетической преддетерминации регуляции, которая находит свое подтверждение в явлении спонтанной дифференциации (трансдетерминации). Другие склоняются к концепции специфических регуляторов [2], в рамках которой дифференциация обусловлена как межклеточным взаимодействием, так и взаимодействием клеток с микроокружением. Однако, независимо от степени экспериментальной апробированности, ни одна из этих концепций не может претендовать на полное решение проблемы (ни с молекулярно-биологической, ни с эмбриологической точек зрения). Открытым в рамках этих концепций остается вопрос о взаимосвязи процессов дифференциации и пролиферации в гетерогенной популяции нормальных клеток.

Цель настоящего исследования - показать, что в гетерогенной клеточной популяции механизм дифференциации, базирующийся на ингибировании клеточного деления посредством факторов дифференцировки, может привести к селекции активно пролиферирующих и нечувствительных к действию этих факторов клеток. Мы назвали это явление автоселекцией. Поскольку, резистентность клеток к действию факторов дифференцировки является одной из основных особенностей, отличающих опухолевые клетки от нормальных, явление автоселекции в гетерогенной популяции дифференцирующихся нормальных клеток может рассматриваться как один из возможных механизмов канцерогенеза.

ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ ГОМОГЕННОГО КЛЕТОЧНОГО КЛОНА

В работе [3] проблема регуляции процессов дифференциации и клеточного деления анализировалась с помощью стохастической модели динамики развития клона нормальных унипотентных клеток в предположении о существовании двух альтернативных сценариев развития каждой новорожденной клетки. Каждый из сценариев развития соответствует либо пролиферативному, либо дифференцированному статусу клетки. Выбор сценария развития рассматривается как случайное событие, зависящее как от собственной митотической активности клетки, так и от факторов дифференцировки (ФД), синтезируемых дифференцированными клетками. Связываясь с новорожденной клеткой ФД могут изменять ее путь развития рецепторами.

В рамках модели динамика развития гомогенного клона нормальных клеток в терминах средних значений $X(n)$, $Y(n)$ всех пролиферирующих клеток X_n и дифференцирующихся клеток Y_n n -ой генерации определяется следующими рекуррентными соотношениями:

$$\begin{aligned} X(n+1) &= 2 w_n X(n), \\ Y(n) &= (1 - w_n) X(n), \end{aligned} \quad (1)$$

$$X(0) = 1, Y(0) = 0, \quad (2)$$

$$w_n = w(p_n, k) = [1 + \exp(p_n - k)]^{-1}, \quad (3)$$

$$p_n = q Y(n-1) / [X(n) + g] + p_{n-1} / 2.$$

где w_n определяет вероятность деления клетки и зависит от собственной митотической активности клетки (k) и количества ФД, связавшихся с клеткой (p_n). Последнее определяется уравнением (3), в котором параметр q характеризует количество синтезированных дифференцированными клетками ФД, а параметр g отражает среднее время их жизни.

Величина параметра k (индекс собственной митотической активности - ИСМА), изменяющаяся от $-\infty$ до $+\infty$, отражает баланс между внутриклеточными регуляторами митотической активности (которые в значительной степени генетически преддетерминированы): положительными (индукторы митотической активности) и отрицательными (ингибиторы деления и активаторы дифференциации). Положительные регуляторы могут быть представлены продуктами протоонкогенов (в частности, семейство тус-генов), в то время как отрицательные являются продуктами генов супрессоров (RB-ген и ген, кодирующий белок p53) [4]. Связываясь с клетками ФД сдвигают баланс, обуславливая уменьшение митотической активности клетки.

Следует подчеркнуть, что клетки, характеризующиеся высокими значениями параметра k и, следовательно, активно пролиферирующие, в то же самое время наименее чувствительны к действию ФД. Это представляется важным, т.к. резистентность клеток к действию факторов дифференцировки является одним из основных признаков, отличающих опухолевые клетки от нормальных. Следовательно в модели клетки с высоким ИСМА (большие значения k) характеризуются фенотипом опухолевых клеток.

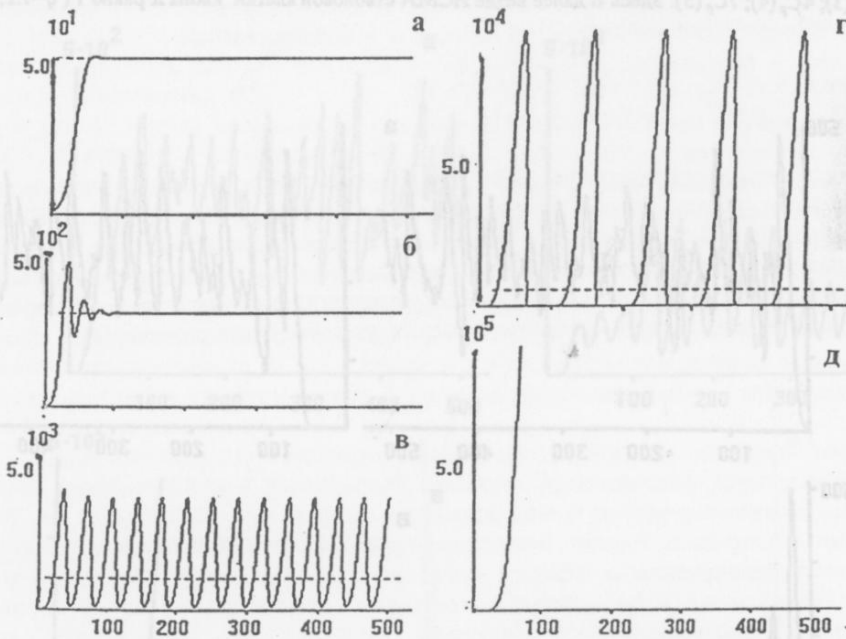


Рис. 1. Динамика развития гомогенного клона. По ординате - количество пролиферирующих клеток, по абсциссе - номер генерации. а, б, в, г соответствует клонам с различными значениями K (ИСМА): 0.3, 0.7, 1.05, 1.15, 1.2 ($q=1.2, g=200$).

На Рис. 1 представлены результаты расчетов модели динамики роста клона при различных значениях ИСМА. Видно, что с увеличением значения параметра k динамическая картина изменения количества пролиферирующих клеток из монотонной становится немонотонной с последующим возникновением незатухающих квази-гармонических колебаний, амплитуда и период которых растут вместе с ростом k . С дальнейшим ростом этого параметра осцилляции сменяются контрастной динамической картиной, в которой широкие (порядка нескольких десятков длительностей митотического цикла) интервалы квази-экспоненциального роста числа пролиферирующих клеток чередуются интервалами быстрого и (в течение 2 или 3 митотических циклов) и значительного снижения их количества. В конечном варианте ассимптотическая динамика клона полностью трансформируется в экспоненциальную.

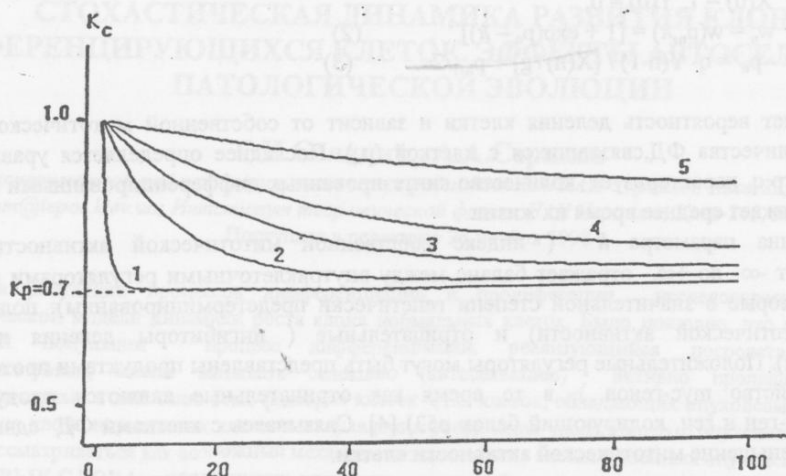


Рис. 2. Регрессия среднего значения ИСМА клона к среднему значению этого индекса $K_p=0.7$ устойчивой популяции. Параметр гетерогенности клеточной популяции $C_p=20$. Кривые 1,2,3,4,5 соответствуют различным параметрам гетерогенности клона: $C_c = C_p$ (1); $2 C_p$ (2); $3 C_p$ (3); $4 C_p$ (4); $7 C_p$ (5). : $C_c = C_p$ (1); $2 C_p$ (2); $3 C_p$ (3); $4 C_p$ (4); $7 C_p$ (5). Здесь и далее везде ИСМА стволовой клетки клона K равно 1 ($q=1.2$, $g=200$).

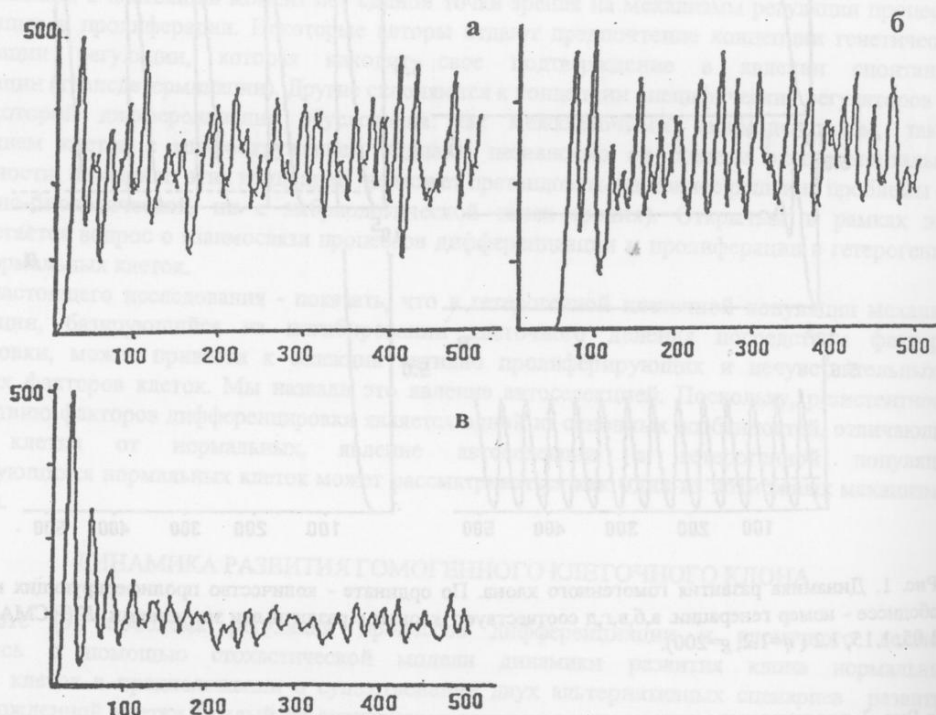


Рис. 3. Динамика развития гетерогенного клона (рассчитанная по модели с учетом случайного характера процессов пролиферации и дифференциации). По ординате - целочисленное количество пролиферирующих клеток, по абсциссе - номер генерации. а,б,в - соответствуют клонам с различными параметрами гетерогенности : $C_c = C_p$ (а); $3 C_p$ (б); $7 C_p$ (в). Параметры распределения устойчивой клеточной популяции: $C_p=20$, $K_p=0.7$.

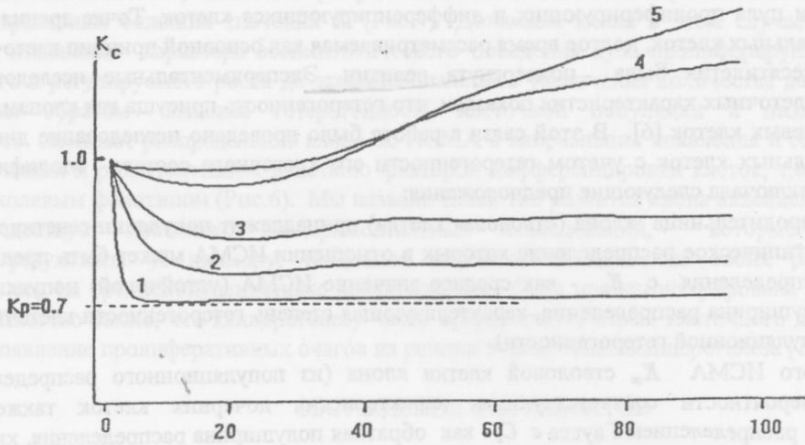


Рис. 4. Прогрессия среднего значения ИСМА клона в процессе его роста. Параметр гетерогенности клеточной популяции $C_p=5$. Кривые 1,2,3,4,5 соответствуют различным параметрам гетерогенности клона: $C_c = C_p(1); 2C_p(2); 3C_p(3); 4C_p(4); 7C_p(5)$.

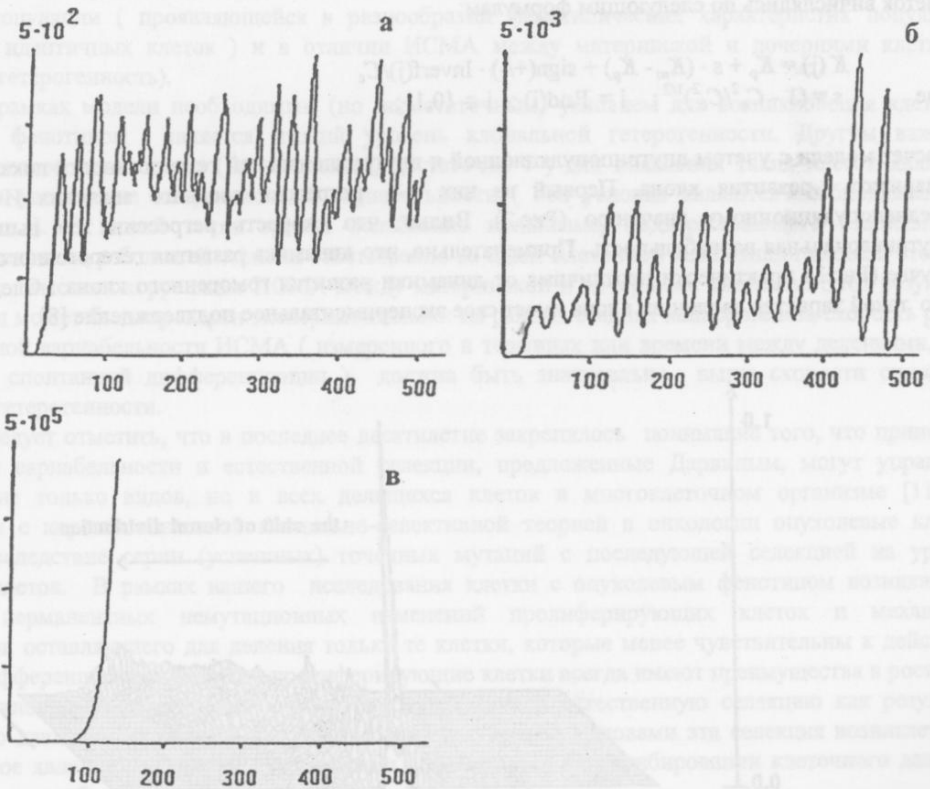


Рис. 5. Динамика развития гетерогенного клона (рассчитанная по модели с учетом случайного характера процессов пролиферации и дифференциации). По ординате - целочисленное количество пролиферирующих клеток, по абсциссе - номер генерации. а,б,в - соответствуют клонам с различными параметрами гетерогенности: $C_c = C_p(а); 3C_p(б); 7C_p(в)$. Параметры распределения устойчивой клеточной популяции: $C_p=5, K_p=0.7$.

ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ ГЕТЕРОГЕННОГО КЛЕТОЧНОГО КЛОНА

Одним из главных и достаточно жестких предположений модели является предположение о гомогенности пула пролиферирующих и дифференцирующихся клеток. Точка зрения о гомогенности клонов нормальных клеток, долгое время рассматриваемая как основной принцип клеточной биологии, в последнее десятилетие была подвергнута ревизии. Экспериментальные исследования большого количества клеточных характеристик показали, что гетерогенность присуща как клонам нормальных [5], так и опухолевых клеток [6]. В этой связи в работе было проведено исследование динамики развития клона нормальных клеток с учетом гетерогенности его клеточного состава. Модификация модели в этом случае включала следующие предположения:

- клетка-прародительница клона (стволовая клетка) принадлежит популяции генетически идентичных клеток, фенотипическое распределение которых в отношении ИСМА может быть представлено в виде Гауссова распределения с K_p - как среднее значение ИСМА (устойчивой) популяции, а C_p - как обратная полуширина распределения, характеризующая степень гетерогенности клеточной популяции (параметр популяционной гетерогенности).
- для каждого ИСМА K_m стволовой клетки клона (из популяционного распределения) функция плотности вероятности соответствующих характеристик дочерних клеток также может быть представлена распределением Гаусса с C_c - как обратная полуширина распределения, характеризующая степень гетерогенности клона (параметр клональной гетерогенности).

Следует отметить, что многие экспериментальные исследования показали более значительную внутрипопуляционную вариабельность клеточных характеристик по сравнению с внутриклональной. К примеру, экспериментальные исследования кератицитов эпидермиса морских свинок (проведенное еще в 1981) показали, что внутрипопуляционная вариабельность времени между клеточными делениями в три раза больше, чем внутриклональная [7]. В этой связи в работе предполагалось, что $C_c > C_p$.

Для каждой материнской клетки (с ИСМА равным K_m) значения ИСМА $K(j)$ дочерних клеток вычислялись по следующим формулам:

$$K(j) = K_p + s \cdot (K_m - K_p) + \text{sign}(+/-) \cdot \text{Inverf}(j)/C_c$$

где $s = (1 - C_p^2/C_c^2)^{1/2}$; $j = \text{Rnd}(i)$; $i \in \{0, 1\}$;

Расчет модели с учетом внутрипопуляционной и внутриклональной гетерогенности показал два разных варианта развития клона. Первый из них - регрессия среднего значения ИСМА клона к среднепопуляционному значению (Рис.2). Видно, что скорость регрессии тем выше, чем выше внутриклональная вариабельность. Примечательно, что динамика развития гетерогенного клона в этом случае (Рис.3) практически неотличима от динамики развития гомогенного клона. Следует отметить, что такой характер эволюции клона имеет свое экспериментальное подтверждение [8].

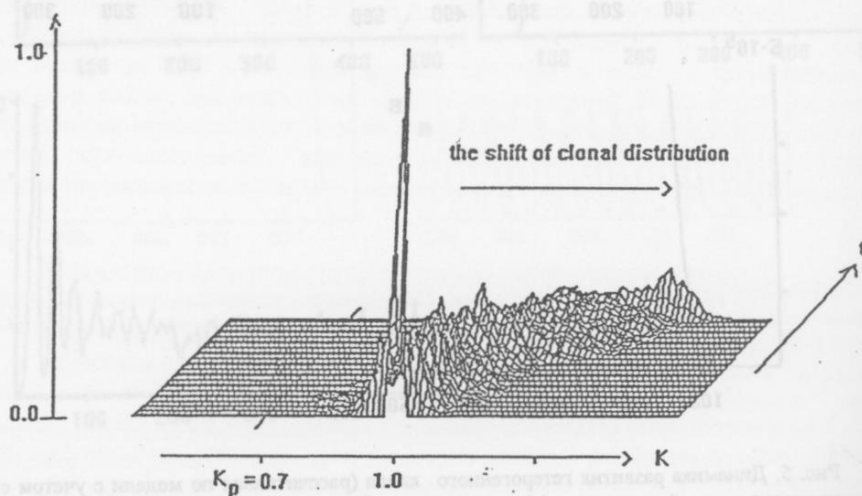


Рис. 6. Смещение клонального распределения ИСМА (K) в процессе эволюции (шкала t) гетерогенного клона. Параметры распределения устойчивой клеточной популяции: $C_p = 5$, $K_p = 0.7$. Параметр гетерогенности клона $C_c > 10 C_p$.

Увеличение гетерогенности клеточной популяции обуславливает другой сценарий развития клеточного клона. Регрессия клона в направлении среднего значения ИСМА клеточной популяции (которая также имеет место) сменяется (с уменьшением клональной вариабельности) прогрессией клона в направлении больших значений K (Рис.4). Динамика клона в этом случае демонстрирует постепенные изменения характера ассимптотического поведения пула пролиферирующих клеток: от ограниченного и регулируемого роста до экспоненциального увеличения количества делящихся клеток (Рис.5). Таким образом высокая гетерогенность клеточной популяции и низкая клональная гетерогенность смещают распределение клона по ИСМА в направлении появления и селекции активно пролиферирующих и резистентных к действию факторов дифференцировки клеток, т.е. в направлении клеток с опухолевым фенотипом (Рис.6). Мы назвали такой тип развития клона явлением автоселекции.

Существует несколько экспериментальных исследований, которые подтверждают полученные результаты. К примеру, тенденция потомков походить на своих родителей более значительно, чем на среднепопуляционные характеристики была продемонстрирована для опухолевых клеток [9]. Известно также, что канцерогенезу часто предшествует взрыв клеточного деления; один из примеров - появление пролиферативных очагов на ранних этапах гепатоканцерогенеза [10].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В процессе деления и дифференциации наблюдается два различных сценария развития клона нормальных клеток. Один из них, обуславливающий регрессию ИСМА к среднепопуляционному значению, является по сути проявлением механизма, обеспечивающего стабильность клеточной линии (генотипическая стабильность или видовой консерватизм). Другой - может приводить к прогрессии клона в направлении появления и селекции клеток с опухолевым фенотипом. Этот сценарий эволюции клона нормальных дифференцирующихся клеток можно рассматривать как один из возможных механизмов канцерогенеза.

В обоих случаях эволюция клона возникала вследствие вариабельности (или гетерогенности) клеточной популяции (проявляющейся в разнообразии фенотипических характеристик популяции генетически идентичных клеток) и в отличии ИСМА между материнской и дочерними клетками (клonaльная гетерогенность).

В рамках модели необходимым (но недостаточным) условием для возникновения клеток с опухолевым фенотипом является низкий уровень клональной гетерогенности. Другим важным условием, которое необходимо (и, возможно, достаточно!) для появления таких клеток является значительное увеличение популяционной вариабельности (оба условия являются необходимыми и достаточными). С нашей точки зрения ослабление механизма, поддерживающего стабильность клеточного генотипа, в большей степени ответственно за сдвиг клеточной композиции клона в сторону канцера, чем высокая корреляция ИСМА между материнской и дочерними клетками. Этот результат исследования может быть проверен экспериментально: на ранних стадиях канцерогенеза скорость роста межклonaльной вариабельности ИСМА (измеренного в терминах или времени между делениями, или вероятности спонтанной дифференциации) должна быть значительно выше скорости снижения клonaльной гетерогенности.

Следует отметить, что в последнее десятилетие закрепилось понимание того, что принципы наследуемой вариабельности и естественной селекции, предложенные Дарвиным, могут управлять эволюцией не только видов, но и всех делящихся клеток в многоклеточном организме [11]. В соответствии с хорошо известной клonaльно-селективной теорией в онкологии опухолевые клетки возникают вследствие серии (успешных) точечных мутаций с последующей селекцией на уровне делящихся клеток. В рамках нашего исследования клетки с опухолевым фенотипом возникают в результате перманентных немутационных изменений пролиферирующих клеток и механизма автоселекции, оставляющего для деления только те клетки, которые менее чувствительны к действию факторов дифференцировки (активно пролиферирующие клетки всегда имеют преимущества в росте). В отличие от клonaльно-селективной теории, рассматривающей естественную селекцию как результат селективного давления на клон со стороны организма (другими словами эта селекция возникает как внеклonaльное явление), механизм автоселекции основывается на ингибировании клеточного деления ФД, т.е. является событием внутриклonaльным.

Как указывалось ранее, важнейшим звеном предлагаемого механизма канцерогенеза является увеличение фенотипической вариабельности клеточного генотипа. К сожалению механизм, поддерживающий стабильность генотипа, все еще неизвестен. Более того, отсутствие строгих определений того, что есть генотип и что есть фенотип препятствует осмыслению результатов экспериментальных исследований и пониманию генетических и биохимических процессов, лежащих в основе формирования генотипа клетки. Обсуждение этих вопросов выходит за рамки предлагаемого исследования и нуждается в специальном рассмотрении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hurlin, P.J., Foley, K.P., Ayer, D.E., Eisenman, R.N., Hanahan, D. & Arbeit, J.M. *Oncogene*. 1995.v.11, 2487-2501.
2. Milner, L.A., Bigas, A., Kopan, R., Brashem-Stein, C., Birnstein, I.D. & Martin, D.I.K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996.v.93, 13014-13019.
3. Serikov, A.A. & Solyanik, G.I. // *Physics of the alive*. 1998. v.6, 1-12.
4. Green, M.R. // *Cell*. 1989. v.56, 1-3.
5. Axelrod, D.E. & Kuczek, T. // *Computers Math. Applic.* v.18, 871-881.
6. Heppner, G.H. (1984) Tumor heterogeneity. *Cancer Res.* 1989. v.44, 2259-2265.
7. Riley, P.A. & Hala, M. // *Cell & Tissue Kinet.*, 1981.v.14, 489-500.
8. Gamel, J.W. & Axelrod, D.E. // *Cell Prolif.* 1991. v.24, 281-292
9. Axelrod, D.E., Gusev, Y. & Kuczek, T. // *Cell Prolif.* 1993. v.26, 235-249.
10. Farber, E. // *Cancer Biochem. Biophys.* 1991 v.12, 157-165.
11. Murase, M. // *Progress of Theor. Physics*. 1996.v.95, N1, 1-36.

INVESTIGATION OF SENSITIVE DEPENDENCE UPON INITIAL CONDITIONS AND PARAMETERS OF MODEL BURSTING NEURON

A.O. Komendantov^{1,3)}, A.Ch. Gozak²⁾, N.I. Kononenko³⁾

1) Institute of Physics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev;

2) National Technical University of Ukraine "KPI", Kiev;

3) Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Bogomoletz Str., 4, 252601

GSP, Kiev-24, Ukraine; e-mail: kao@serv.biph.kiev.ua

Received on 28 November 1998

Sensitive dependence upon initial conditions of realistic mathematical model of neuron has been investigated using construction of $([Ca^{2+}]_{in} - V)$ phase diagrams. Delicate transformations of phase diagrams under change of relevant parameter of the model (specific chemosensitive hyperpolarization-activated conductivity g_B , participating in slow wave generation) has been detected using calculation of fractal dimension. The results obtained are important to understanding of complex dynamical behavior of neuron.

KEY WORDS: bursting neuron, deterministic chaos, fractal dimension

Complex biological systems can possess high sensitivity to external influences, parameters and initial conditions. Neuron is a typical example of a complex non-linear system. By method of computer simulation we investigated different modes of oscillatory stationary processes in realistic model of bursting neurons [1,2]. The model includes both membrane and intracellular components. The membrane ionic currents were modeled by the Hodgkin-Huxley formalism [3] and included a slow-wave generating mechanism, spike a generating mechanism, an inward Ca current, intracellular concentration of calcium ions, $[Ca^{2+}]_{in}$, and $[Ca^{2+}]_{in}$ -sensitive current. $[Ca^{2+}]_{in}$ depends on Ca^{2+} influx via cellular membrane, cytosolic buffering, and uptake by intracellular Ca stores. Model demonstrated non-linear dynamical properties, deterministic chaos and fractal feature due to interaction between membrane and intracellular processes with different time scales. In present paper we have used quantitative estimations for detailed analysis of complexity of model neuron behavior and its sensitivity to initial conditions and relevant parameters.

DETECTION OF MODES AND CONSTRUCTION OF PHASE DIAGRAMS OF INITIAL CONDITIONS (PDICs)

Two basic types of neuronal electrical activity, bursting and non-bursting (including beating, chaotic etc.), can be distinguished. Different stationary levels of neurotransmitter secretion by synaptic terminal are corresponded to them. It is known that neuron generating bursting activity is more effective to release biologically active substance than cell with other patterns of electrical activity [4].

Figure 1 exemplifies two typical oscillations of membrane potential in model neuron [2]. An observed mode depends on initial conditions (membrane potential, V , intracellular calcium concentration, $[Ca^{2+}]_{in}$) and model parameters. In particular, specific chemosensitive conductivity (g_B), participating in slow wave generation is chosen as a control parameter.

Interspike intervals (ISIs) were used as a basic characteristic of oscillatory mode; activity was identified as bursting one when ISI exceeded 4 s. Due to transient periods, the ISIs occurring in first 30 s were not used for analysis. Series consisting of eleven PDICs ($[Ca^{2+}]_{in} - V$) for different values of g_B in interval 0.1275 - 0.1502 μS was obtained. Six of them are presented on Fig.2. Size of each image is 16800 pixels. It should be noted that other parameters of the model were equal for each diagram. PDICs demonstrate complexity of boundary regions between different modes (bursting and non-bursting) and their dependence on g_B . Such behavior of system needs quantitative analysis and search of corresponding indexes.

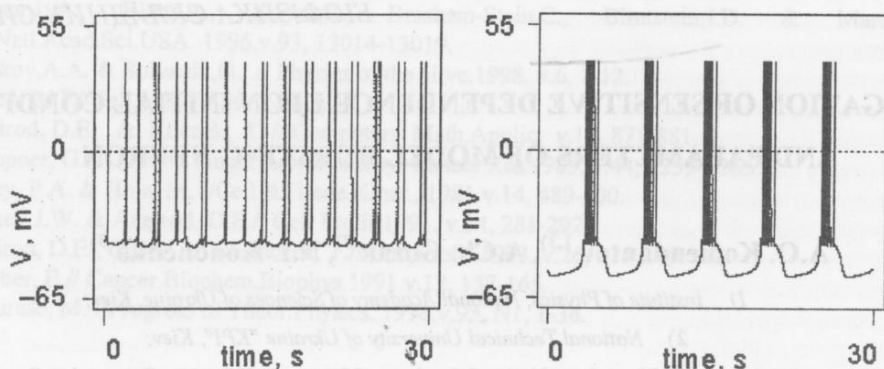


Fig. 1. Different types of electrical activity in model neuron. *Left*: chaotic activity; *right*: bursting activity.

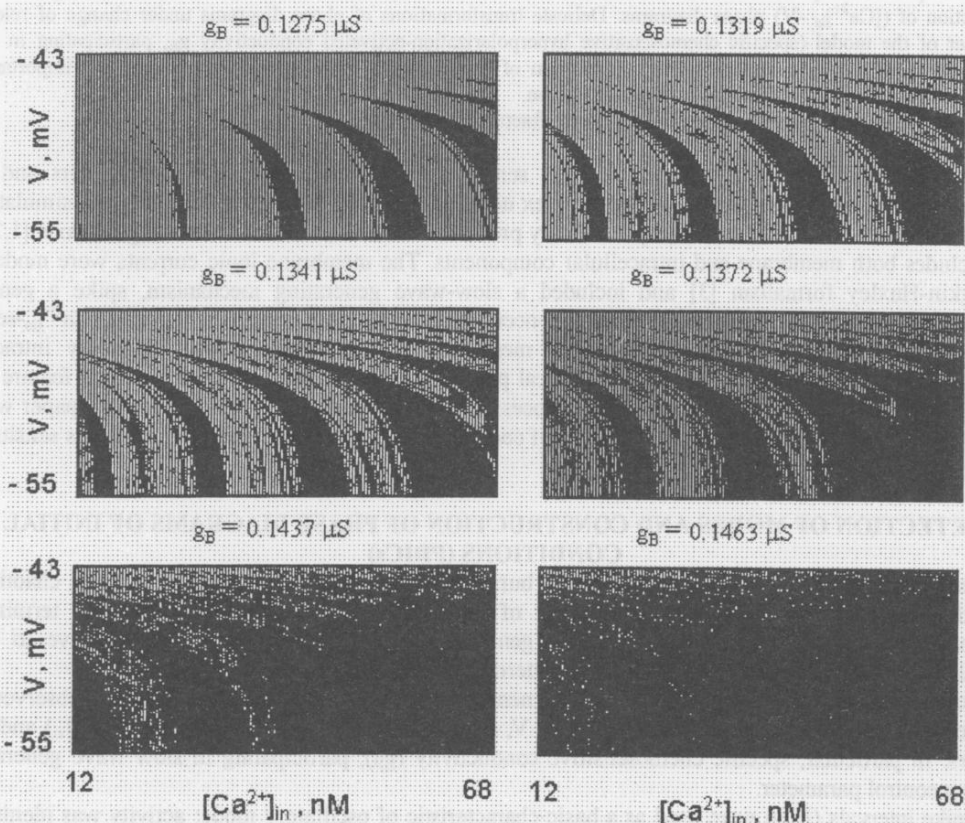


Fig. 2. Phase diagrams of initial conditions. Black points: bursting activity; white points: non-bursting activity (including chaotic one). The incremental steps for $[Ca^{2+}]_{in}$ and V are 0.4 nM and 0.1 mV, respectively. The corresponding values of g_B are presented above each diagram.

ANALYSIS OF PDICs.

The methods of image analysis were used for investigation of PDICs. For this aim, transfer from $([Ca^{2+}]_{in} - V)$ plane of initial conditions to non-dimensional plane (x, y) was conducted where $\Delta x \sim \Delta[Ca^{2+}]_{in}$, $\Delta y \sim \Delta V$. It has been accepted that $\Delta x = 1$, $\Delta y = 1$.

Mode function was suggested in order to present PDICs in 3D manner: $h(x, y) = 0$ for bursting activity and $h(x, y) = 1$ for non-bursting one.

Investigation of sensitive dependence upon initial conditions and parameters...

Different characteristics have been used to detect changes at phase diagrams (Fig.3): average size of continuous field of bursting activity (AS), number of these fields (NF), standard deviation of mode function ($D_h^{0.5}$). In studied range of parameter changing (0.1275 - 0.1502 μ S) AS(g_B) has subtle minimum, $D_h^{0.5}(g_B)$ - subtle maximum and NF(g_B) - well-expressed maximum.

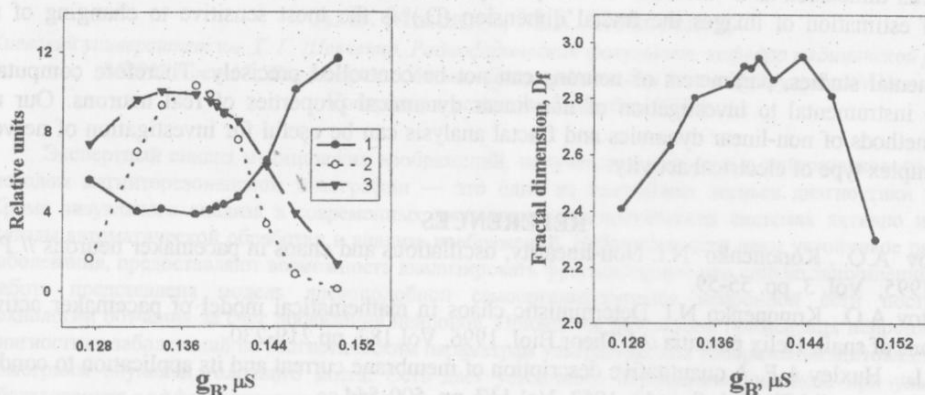


Fig.3. Different quantitative characteristics of phase diagrams of initial conditions as functions of g_B . Left: 1 - AS; 2 - NF/50; 3 - $20 \cdot D_h^{0.5}$; right: fractal dimension, D_f

For diagnostic of difficult observable changes on images as well for data processing methods of fractal analysis are used [5]. In these methods, dependence of some characteristic of object (length of curve, square of surface, volume of figure) on scale of corresponding "measure" is engaged. Kind of this dependence allows one to reflect the properties of object by one number, named as fractal dimension, (D_f).

Fracture of surfaces obtained may be characterized by D_f , calculated by modified method of covering. In accordance with this method function $h(x,y)$ forms a relief. For calculation of surface square (S_p) area of definition of function $h(x,y)$ was parted on squares by size $\sigma = \Delta x = \Delta y$. In each zone averaged values of partial derivatives $K_x = \langle \Delta h / \Delta x \rangle$, $K_y = \langle \Delta h / \Delta y \rangle$. Surface ΔS_p was approximated by parallelogram. Length of parallelogram sides (l_1, l_2) and one of its diagonals (l_3) were calculated in accordance with:

$$l_1 = \Delta x \cdot (1 + K_x^2)^{0.5}, \quad l_2 = \Delta y \cdot (1 + K_y^2)^{0.5}, \quad l_3 = [(K_y \Delta y - K_x \Delta x)^2 + \Delta x^2 + \Delta y^2]^{0.5}$$

The parallelogram square was calculated as sum of square of two triangles with equal sides

$$(l_1, l_2, l_3): \Delta S_p = 2 [p(p-l_1) \cdot (p-l_2) \cdot (p-l_3)]^{0.5}, \quad \text{where } p = (l_1 + l_2 + l_3)/2.$$

Square of relief defined by function $h(x,y)$ is $S_p = \sum \Delta S_p$. Relationship "characteristic - measure" $S_p(\sigma)$, in accordance with fractal methods allows one to calculate fractal dimension (D_f) of studied surface. For this aim following dependence $S_p \sim \sigma^{(2-D_f)}$ was used. For subtle broken relief $S_p \sim \text{const}$ and $D_f \sim 2$. Strongly broken relief has significant dependence of S_p on σ , another words, $D_f > 2$. Dependence of D_f on g_B has a maximum with delicate structure (Fig.2). Maximum lying in the range of g_B from 0.134 to 0.146 μ S gives evidence that most unstable oscillatory regimes take place in this region of g_B . Other words, the small changes of initial conditions, (V , $[Ca^{2+}]_{in}$), produce switches between principally different types of electrical activity (bursting and non-bursting activity). Decrease of D_f upon $g_B > 0.146 \mu S$ is due to that bursting activity predominates in studied range of initial conditions. But when $g_B < 0.134 \mu S$ non-bursting activity predominates and D_f decreases too. Such behavior of $D_f(g_B)$ corresponds to our understanding of role of chemosensitive conductance g_B in generation of bursting pacemaker activity in nerve cell.

CONCLUSION

Nerve cell as a non-linear system may be very sensitive to initial conditions. This sensitivity has been demonstrated in model by construction of phase diagrams of initial conditions and fractal dimension computation.

At least two stable informational significant modes of electrical activity can be selected in diversity of patterns of bursting neuron: bursting activity and single spiking (beating and chaotic) ones. It is seen from the

presented work that single bursting neuron can act as dynamical switch in neuronal assemble. Peptide transmitter having peptide nature in case of bursting neurons can regulate the sensitivity of this switch. It has been shown that transitions between different modes (bursting activity - non-bursting one) have complicate character upon changing of $[Ca^{2+}]_i$ and membrane potential. In intact nerve cells, it takes place upon generation of postsynaptic potentials and transmitter-stimulated release of Ca^{2+} from intracellular calcium depot. On the phase diagrams of initial conditions boundaries between regions corresponding different modes have fractal structure. Fractal dimension as a "measure" of complexity of studied boundary was used. In comparison with other kinds of estimation of images the fractal dimension (D_f) is the most sensitive to changing of model parameters.

In experimental studies, parameters of neurons can not be controlled precisely. Therefore computational model can be instrumental to investigation of non-linear dynamical properties of real neurons. Our results indicate that methods of non-linear dynamics and fractal analysis can be useful for investigation of nerve cells possessing complex type of electrical activity.

REFERENCES

1. Komendantov A.O., Kononenko N.I. Non-linearity, oscillations and chaos in pacemaker neurons // *Physics of the Alive*, 1995, Vol. 3, pp. 55-59.
2. Komendantov A.O., Kononenko N.I. Deterministic chaos in mathematical model of pacemaker activity in bursting neurons of snail, *Helix pomatia*. // *J.Theor.Biol.* 1996, Vol.183, pp.219-230.
3. Hodgkin A.L., Huxley A.F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve // *J.Physiol. (Lond.)*, 1952, Vol.117, pp. 500-544.
4. Dutton A., Dybal R.E. Phasic firing enhances vasopressin release from the rat neurohypophysis // *J. Physiol. (Lond.)*, 1979, Vol.290, pp.433-440.
5. Feder J. *Fractals*. Plenum, New York, 1988.

УДК 537.86/87:530.182

БІОФІЗИКА СКЛАДНИХ СИСТЕМ

АНАЛИЗ ТЕКСТУР МЕДИЦИНСКИХ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ И ТОМОГРАФИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ

А. В. Мыслик, М. К. Новоселец

*Киевский университет им. Т. Г. Шевченко, Радиофизический факультет, кафедра медицинской радиофизики,
252017 Киев-17, Владимирская 64, mav@boy.rpd.univ.kiev.ua, nmk@boy.rpd.univ.kiev.ua*

Поступила в редакцию 7 октября 1998 г.

Экспертный анализ медицинских изображений, полученных с помощью ультразвукового сканера или методом магниторезонансной томографии — это одно из важнейших звеньев диагностики заболеваний. Кроме визуального анализа в современных экспертных диагностических системах активно используются методы автоматической обработки и анализа изображений. Нейронные сети дают устойчивое распознавание заболеваний, предоставляют возможность анализировать фрагментарные или сильно зашумленные данные. В работе представлена модель древовидной самоорганизующейся нейронной сети построенной по технологии обучения за счет добавления нейронов. Приведены результаты применения нейронной сети, для диагностики заболеваний по статистическим параметрам ультразвуковых изображений щитовидной железы и томограмм опухолей головного мозга. Сеть дает устойчивое определение диагноза при ультразвуковых обследованиях с эффективностью 80-85% и более 70% при томографических обследованиях.

Ключевые слова: текстурные характеристики изображений, ультразвуковые медицинские изображения, томографические медицинские изображения, искусственные нейронные сети.

Организму в целом, отдельным его системам и органам присуще свойство самоорганизации, кроме того большинство систем организма являются распределенными и состоят из одинаковых, либо близких по функциям элементов (например, в нервной системе — нейроны, кровеносной — сосуды, в дыхательной системе, а именно легких, — альвеолы и т.д.). Подход, основанный на учете самоорганизации, лежит в основе идеи моделирования нервной системы — нейронных сетей и берет свои истоки в биофизике сложных систем.

Методика диагностики заболеваний с помощью анализа медицинских изображений паренхиматозных органов человека, в частности ультразвуковых изображений щитовидной железы и томографических изображений головного мозга, широко распространена, особенно при массовых и скрининговых обследованиях населения. Наряду с традиционной визуальной оценкой последнее время все большее распространение получают методы диагностики, которые основаны на автоматизированной классификации количественных параметров, определяемых из анализа изображений. Наибольшую эффективность сегодня демонстрируют методы, в которых изображение рассматривается как некоторый статистический процесс [1]. Для диагностических целей могут быть использованы текстурные параметры изображений [2], которые впоследствии могут быть обработаны с помощью разных методов [3]: аппроксимация данных, кластерный, корреляционный анализ и т.д. Недостатком этих методов является необходимость в априорном определении алгоритмов классификации данных и принятия решения. В данной работе используется другой подход — параллельная распределенная обработка информации, получаемой в результате расчета статистических параметров текстуры изображений с помощью так называемых алгоритмов самоорганизующихся нейронных сетей. Их особенностью является способность формирования алгоритма принятия решения, как следствия обучения сети.

Использование идеи параллельной обработки на которой основаны алгоритмы нейронных сетей позволяет быстро обрабатывать значительные объемы разнообразной информации. Для целей медицинской диагностики можно использовать как непосредственно само изображение, подавая данные в виде пикселей с определенными значениями яркости — анализировать само изображение, так и использовать вычисленные параметры изображения.

Для определения диагноза по УЗ и МР изображениям можно использовать статистические параметры, которые применялись в [4] для регрессионного анализа. Использование подобных параметров вместо обработки самого изображения требует значительно меньше ресурсов и времени для вычислений и дают более устойчивое поведение нейронных сетей. Полученные параметры могут быть проанализированы методами кластерного анализа, аппроксимации данных, однако существенным преимуществом нейронных сетей есть то, что они могут быть использованы для анализа неполных (фрагментарных) и зашумленных данных благодаря распределенности обработки, нейронные сети при корректном обучении могут дать значительно более высокую диагностическую эффективность, кроме

того они одни из наиболее быстродействующих при обработке большого количества диагностической информации за счет параллелизма обработки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изображения щитовидной железы, которые были получены с помощью ультразвукового сканнера и имели размер 512x512 пикселей с 256 градациями серого цвета. Пример полученных изображений приведен на рис. 1.

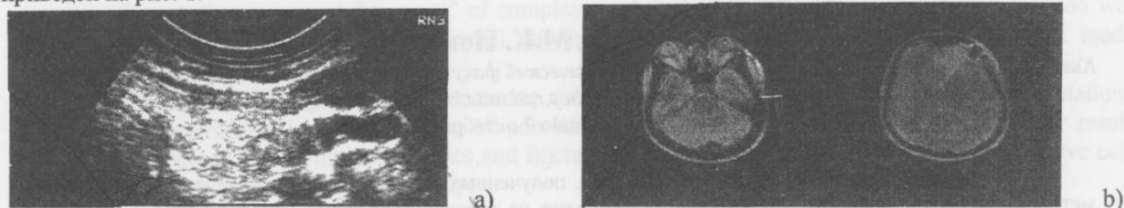


Рис. 1. Ультразвуковое изображение щитовидной железы — а) и томографическое изображение головного мозга — б).

Из файлов выделялась информативная часть, а именно, обводился контур железы. Если рассматривать изображение щитовидной железы как двумерный статистический процесс [3,4], то для файлов с выделенной информативной областью можно рассчитать такие коэффициенты [1,3,4]: среднее, дисперсия, коэффициент эксцесса, коэффициент асимметрии, энергия, энтропия, а так же двумерные характеристики: автокорреляция, ковариация, момент инерции, средняя абсолютная разность, “обратная разность”, двумерная энтропия.

Подобный подход был использован для изображений головного мозга, полученных с помощью магниторезонансного томографа и имели размер 256x256 пикселей и 256 градаций серого тона. Пример изображения показан на рисунке 1. Для каждого изображения доктором выделялся контур опухоли и рассчитывались параметры, которые указаны выше. Кроме того для каждого томографического среза с патологией обводился равный по площади контур нормальной ткани и для него так же рассчитывались характеристики текстуры.

МОДЕЛЬ НЕЙРОННОЙ СЕТИ

Для обработки полученной текстурной информации было проведено тестирование нескольких алгоритмов. Было реализовано несколько классических алгоритмов — обратного развития Поля Вербова (back propagation - BPA), прямого развития (nonlinear feedforward - NFW), персептрона и алгоритм обучения с помощью добавления нейронов.[5,6] Все они выявили определенные недостатки, например, эффективность работы зависит от *a priori* выбранной структуры сети, которая определяет меру нелинейности; по результатам предварительного тестирования был отобран, как наиболее устойчивый, быстродействующий и эффективный, алгоритм обучения с помощью добавления нейронов. [7]

Для дальнейшей работы был реализован алгоритм сети с добавлением нейронов.

Нейронная сеть выполняет кластеризацию пространства входных данных с помощью гиперплоскостей и создается во процессе фазы обучения, в отличие от других сетей, где топология задается *a priori*. Существенные отличия имеет основной элемент сети — нейрон, который выполняет минимизацию энтропии для всех входных классов с целью получения устойчивого решения и уменьшения погрешности распознавания.

Базовый элемент сети — нейрон приведен на рис. 2. Нейрон имеет пороговую функцию принятия решения, множество входных связей — X , два комплементарных выхода F и $\hat{F}$, а так же контролирующий вход E . Вектор весовых коэффициентов W и порог T каждого нейрона с некоторой достоверностью определяют гиперплоскость $P = \{ X | X \in R^n, W^T X = T \}$, которая разделяет пространство входных данных на два подпространства принятия решения, задаваемые функциями F и $\hat{F}$. Если контролирующий вход E неактивен ($E=0$), оба выхода F и $\hat{F}$ содержат нулевые значения не зависимо от значений X , в противном случае ($E=1$) либо F либо $\hat{F}$ имеет значение 1, в зависимости от того к какой полуплоскости принятия решения принадлежит входной вектор.

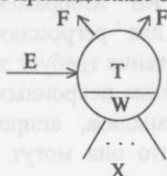


Рис. 2. Одиночный нейрон.

Анализ текстур медицинских ультразвуковых и томографических изображений...

Каждый из выходов нейрона связан со входом Е нейрона следующего слоя. Таким образом, последовательность связей и нейронов создает так называемое дерево принятия решения.

В фазе обучения множество известных (для которых определено к какому классу, диагнозу они относятся) объектов подается на инкрементно формирующуюся сеть. При этом каждый нейрон выполняет следующие операции:

- Если нейрон не активен, он не выполняет оптимизацию, а передает данные на выход без изменения.

- Если нейрон активен ($E=1$), выполняется процесс оптимизации, который приведен ниже. Нейрон стремится определить гиперплоскость разделяющую входные классы, т. е. совокупность коэффициентов W и порог T .

- Процесс оптимизации продолжается до тех пор, пока множество входных векторов остается линейно разделяемым. Если же множество не разделяемо изначально оптимизация определит гиперплоскость, соответствующую минимальной энтропии.

Если узел-нейрон хотя бы один раз в процессе обучения становится неактивным, значение порога и весовых коэффициентов запоминаются и дальше не изменяются. Дальнейшее распределение по классам производится следующими слоями. Рассмотрим алгоритм построения сети на примере двух условных классов — 1 и 0. Пусть p — количество векторов класса 1, а n — класса 0. Предположим, что нейрон активен, тогда $p/(p+n)$ есть вероятность того, что вектор (объект) принадлежит классу 1, а $n/(p+n)$ — вероятность того, что вектор принадлежит классу 0. В этом случае можно требовать, чтобы на выходе сети получался 0 для класса 0 и 1 для другого класса. Мера неопределенности принятия решения при этом включена в энтропию:

$$\Delta S(N) = - \frac{p}{p+n} \log \frac{p}{p+n} - \frac{n}{p+n} \log \frac{n}{p+n} \quad (2.1)$$

Задача каждого узла — найти минимум энтропии, т. е. уменьшить неопределенность принятия решения. После построения гиперплоскости пространство входных параметров разделяется на два подпространства, в первом остается p_1 и n_1 векторов, принадлежащих, соответственно, классам 1 и 0, а во втором — p_2 и n_2 принадлежащих тем же классам. Энтропия при этом принимает вид следующей взвешенной суммы:

$$\Delta S(N+1) = \frac{p_1+n_1}{p+n} \left(- \frac{p_1}{p_1+n_1} \log \frac{p_1}{p_1+n_1} - \frac{n_1}{p_1+n_1} \log \frac{n_1}{p_1+n_1} \right) + \frac{p_2+n_2}{p+n} \left(- \frac{p_2}{p_2+n_2} \log \frac{p_2}{p_2+n_2} - \frac{n_2}{p_2+n_2} \log \frac{n_2}{p_2+n_2} \right) \quad (2.2)$$

Идеальный случай — когда в процессе обучения получается гиперплоскость P , которая минимизирует выражение (2.2). Однако подобная оптимизация является довольно сложной проблемой и не всегда возможна. Поэтому далее используется эвристический подход, предложенный К. Коутсугерасом.[7] Эвристическая мера качества разделения множества параметров на классы определяется следующим образом:

$$J(W) = \frac{|\bar{m}_1 - \bar{m}_2|^2}{\bar{s}_1^2 + \bar{s}_2^2} \quad (2.3)$$

где $\bar{m}_1$ и $\bar{m}_2$ — проекции векторов классов 1 и 0, $\bar{s}_1^2$ и $\bar{s}_2^2$ — величины рассеяния проекций. Рассеяние проекций определяются по формулам:

$$\bar{s}_1^2 = \sum_{X \in 1} (X_p - \bar{m}_1)^2, \quad \bar{s}_2^2 = \sum_{X \in 0} (X_p - \bar{m}_2)^2 \quad (2.4)$$

где $X_p = W^T X$.

$J(W)$ — мера отличия проекций, или девиация. Если ввести матрицы рассеяния в виде:

$$S_1 = \sum_{X \in 1} (X - M_1)(X - M_1)', \quad S_2 = \sum_{X \in 0} (X - M_2)(X - M_2)' \quad (2.5)$$

Где M_2 и M_1 — значения векторов классов 1 и 0. Можно записать $\bar{s}_1^2$ в виде $\bar{s}_1^2 = W^T S_1 W$, тогда $\bar{s}_1^2 + \bar{s}_2^2 = W^T S_w W$, где $S_w = S_1 + S_2$. Если записать числитель (2.3) в виде $(\bar{m}_1 - \bar{m}_2)^2 = W^T S_b W$, где $S_b = (M_1 - M_2)(M_1 - M_2)'$, то выражение (2.3) примет вид:

$$J(W) = \frac{W' S_b W}{W' S_w W} \quad (2.6)$$

Оптимизация решения $J(W)$ в виде (2.6) — это функция линейного дискриминанта Фишера [8], для которой находится минимум. Однако указанное правило не работает при $M_1 = M_2$ или если S_w — сингулярная матрица, в этом случае эффективность распознавания зависит от числа обучающих примеров.

Таким образом, после выполнения вышеуказанных вычислений, мы получаем решение уравнения 2.3 и определяем гиперплоскости (в случае рассмотренного примера — одна гиперплоскость, поскольку уравнения записаны для двух классов), оптимальные значения порогов T и весовых коэффициентов W . Они фиксируются, а так же запоминается сама структура полученной при этом сети. Далее на вход подается новая (неклассифицированная) информация, которую необходимо проанализировать. Данные проходят через сеть и в зависимости от того на каком из выходных узлов для данного вектора получено максимальное значение, принимается решение о принадлежности объекта к данному классу и ему присваивается определенный дескриптор. Если во время прогонки данных через сеть не удается определить, к какому классу принадлежит объект, проводится процесс оптимизации по формулам 2.2 — 2.6 и находится решение 2.3 соответствующее минимуму энтропии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для предварительного анализа работы нейронной сети были использованы искусственно сгенерированные данные — наборы точек четырех четвертей математической плоскости. После выяснения условий при которых алгоритм работает наиболее устойчиво, сеть была использована для анализа реальных медицинских изображений. Были использованы обработанные ультразвуковые изображения щитовидной железы и томографические изображения головного мозга. Под обработкой понимается вычисление текстурных характеристик для четырех проекций щитовидной железы и восьми последовательных магниторезонансных томографических срезов. Изображения, результаты вычислений и формальные параметры (пол, возраст, референтный диагноз и т.д.) были занесены в базу данных из которой, по необходимости, извлекалась информация. Предварительные результаты использования методики для экспертной диагностики, а так же регрессионный анализ параметров выявили, что параметры, имеющие максимальную корреляцию, дают более высокую эффективность постановки диагноза.[9] Кроме того использование нейронных сетей для анализа текстурных характеристик показало, что наибольшую вероятность правильной диагностики дают пары параметров, а не комбинации из трех, четырех или пяти параметров, поэтому далее анализировались пары характеристик с максимальной корреляцией.

Для ультразвуковых изображений было проанализировано записи более 300 пациентов. Данные использовались в виде выборок пар диагнозов норма-патология. Комбинации параметров подавались на вход сети, на выходе получались те же параметры и признак диагноза. Для обучения сети были использованы данные 90 пациентов, для распознавания диагноза - 50. Примеры рассчитанных параметров диагностической эффективности, чувствительности и специфичности [9] приведены в табл. 1 для диагнозов норма, диффузный зоб и хронический тиреоидит.

Для магниторезонансных изображений было проанализировано более 80 срезов головного мозга. Данные подавались на вход сети в виде выборок нормальная ткань — опухоль с использованием комбинаций параметров указанных ранее, которые были отобраны из таких же соображений как и для ультразвуковых. Примеры рассчитанных параметров диагностической эффективности, чувствительности и специфичности приведены в табл. 2.

Из полученных результатов видно, что для всех диагнозов для щитовидной железы достигнута вероятность правильной постановки диагноза 80-85%, причем параметры, которые могут быть использованы для экспертной диагностики, перекрываются. Поэтому можно использовать несколько пар одновременно для работы сети и путем построения иерархической схемы создать мощный диагностический комплекс.

Преимущества использованной методики нейронных сетей состоят в том, что они дают возможность быстрой обработки значительных объемов данных, что необходимо при скрининговых обследованиях, метод имеет высокую вероятность правильной постановки диагноза, используемый алгоритм устойчив и не требует больших вычислительных мощностей. Кроме того существует возможность создания оптических схем и микросхем, реализующих структуру сети для обработки медицинских данных, что может значительно разгрузить центральный процессор вычислительной системы диагностического комплекса. К недостаткам алгоритма можно отнести необходимость использования сравнительно больших объемов данных 35-50 записей для обучения сети, а так же необходимость тщательного

предварительного отбора данных для обучения по указанному алгоритму, поскольку сеть строится в процессе обучения и далее ее структура не меняется.

Таблица. 1. Параметры оценки диагностической эффективности метода для ультразвуковых изображений щитовидной железы.

Показатели эффективности метода	Пары параметров и диагноз			
	автокорреляция-ковариация (гипотериоз)	дисперсия-коэффициент асимметрии (хронический тиреоидит)	энтропия разности-энтропия (диффузный зоб)	автокорреляция-ковариация (хронический тиреоидит)
Диагностическая эффективность	0.800	0.850	0.850	0.800
Чувствительность	0.400	0.600	0.600	0.500
Специфичность	0.933	0.933	0.933	0.857

Таблица. 2. Параметры оценки диагностической эффективности метода для томографических изображений головного мозга.

Показатели эффективности метода	Пары параметров и диагноз			
	асимметрия-энтропия разности	энтропия-энтропия разности	автокорреляция - "обратная разность"	автокорреляция-ковариация
Диагностическая эффективность	0.700	0.670	0.720	0.700
Чувствительность	0.800	0.500	0.821	0.600
Специфичность	0.600	0.750	0.633	0.800

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Haralick R.M., Shanmugan K., Dinstein I., Texture Features for Image Classification, IEEE Trans. Systems, Man, and Cybernetics, SMC - 3, 610 - 621 (November 1973).

2. R. Kiekens, J. Boulart , Ntural Nets: New quality in textiles, Ghent University, 1995.

3. Novoselets M. K., Sarkisov S. S., Tcheban A. U. Ultrasound introsopic image-quantitative characteristics for medical diagnostics // Medical Imaging 1993, February 14-19, California, 1898-72.

4. Гридько А. Н., Новоселец М. К., Радченко С. П., Цубин В. А., Компьютерная обработка изображений щитовидной железы лиц, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в результате аварии на ЧАЭС. — Материалы научной конференции с международным участием “Проблемы радиационной эпидемиологии медицинских последствий аварии на Чернобыльской АЭС”, 19-20 октября 1993 года, г. Киев 1993, с. 61-68.

5. Lippman R. P. An introduction to computing with Neural Nets, IEEE ASSP Magazine, p. 4 - 22, April 1987.

6. B. Muller, J. Reinhardt, M. T. Strikland, Neural Networks: An Introduction. Springer 1995, 2nd upd. and corr. ed., p. 13-62, p. 93-101.

7. Koutsougeras, C. & C. A. Papachristou, Training of a Neural Network Model for Pattern Classification Based on an Entropy Measure. Proceedings of the IEEE International Conference on Neural Networks, New York, July 1988.

8. Koutsougeras C., G. Georgiou and C. Papachristou, A feed forward classifier model: Multiple classes, confidence output values and implementation, International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence, Vol. 6, No. 4, 1993.

9. Власов В.В.- Эффективность диагностических исследований. М.: Медицина, 1988. 256с.

УДК 577.32

БЮФІЗИКА СКЛАДНИХ СИСТЕМ

О НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЯХ ТЕПЛОФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОДЫ И ЕЕ ПОВЕДЕНИИ В ЖИВЫХ ОРГАНИЗМАХ

Е.А. Андреев

Институт физики НАН Украины, проспект Науки, 46, Киев, 252650
Поступила в редакцию 5 декабря 1998 г.

Методом дифференциального термического анализа исследовано поведение теплоемкости пересыщенных по концентрации водных растворов кислорода. Приведены данные о температурной зависимости теплофизических параметров водных растворов NaCl , H_2O_2 , O_2 , плазмы крови человека в диапазоне 16-40 °C. Показано, что при концентрации кислорода в растворе, близком к ее значению в артериальной крови человека, температурные особенности поведения максимально выражены при 35-41 градусах Цельсия. Выдвигается гипотеза о том, что физическим репером в системе температурной регуляции теплокровных организмов является фазовый переход "вода - полиморфный лед".

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: неравновесность, вода, кислород, перекись, плазма крови, калориметрия.

Большое количество экспериментальных данных указывает на наличие особенностей структурной динамической организации молекул воды со временами жизни структур много больше, чем классические оценки. В этом плане теория существенно отстала от многочисленных (и часто нестрогих) результатов опыта. Факт разброса в несколько раз [1-2] значений диффузионной подвижности кислорода в живых системах, говорит, что его нетривиальное поведение в слабых водных электролитах имеет под собой фундаментальные основания.

Ранее нами [3] методом ЯМР-релаксации исследована кинетика растворения и выведения кислорода в различных водных растворах. Показано, что при концентрации O_2 выше некоторого критического значения даже при комнатных температурах система закономерно испытывает своеобразный «фазовый переход», в результате чего вода расслаивается на «связанную» и «свободную» фазы. Экспериментально это проявляется в том, что при содержании кислорода в растворе более $3 \cdot 10^{-18} \text{ л/см}^3$ спин-решеточная релаксация протонов воды проявляет неэкспоненциальный характер. Возникает ситуация, сходная с хорошо известным состоянием воды в микропорах. Отличие заключается в том, что в пересыщенной растворенным кислородом среде количественные характеристики обеих фракций (время релаксации, объемная доля) очень сильно зависят от параметров внешнего окружения, в том числе от температуры.

Плавный нагрев таких систем непосредственно в камере ЯМР-релаксометра с непрерывным контролем температурной динамики времен релаксации показал наличие особенностей их поведения вблизи 37 °C. Целью настоящих исследований было изучение температурных зависимостей теплоемкости водных растворов с избыточным содержанием мономолекулярного кислорода. Методика приготовления и характеристики систем моделировали в некоторой степени процессы освождения кислорода гемоглобином в периферической ткани теплокровных существ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Измерение динамики теплоемкости водных растворов кислорода проводили методом дифференциального термического анализа в диапазоне температур 15 - 45 °C. Использовалась оригинальная установка с полупроводниковыми датчиками разности температур исследуемого объекта и эталона, изготовленная без применения ферромагнитных материалов. Чувствительность датчиков обеспечивала точность измерения температуры объекта $2 \cdot 10^{-4} \text{ °C}$. Дрейф измерительной схемы составлял не более двух единиц в младшем разряде АЦП за время одного измерения (порядка 7 часов).

Для исследований использовали около 1 см³ раствора, который размещали в тонкостенной (0,2 мм) стеклянной ампуле диаметром 8 мм. Ампула закрывалась пористым фильтром с малой теплопроводностью. Нагреваемый с линейно возрастающей температурой измерительный блок содержал отверстия для ампул и датчика температуры блока.

Датчик разности температур диаметром 3 мм и высотой 12 мм устанавливали аксиально в ампуле с исследуемым веществом. Его электрическая изоляция осуществлялась стекломалевыми и фенольно-поливинилацетатными покрытиями. Нагрев и охлаждение измерительного блока производили при помощи элемента Пельтье, второй радиатор которого находился в тепловом контакте с активно термостабилизированной с точностью 0,2 °C массивной металлической деталью. Мостовая схема датчика разности температур, входной каскад предусилителя, усилитель термопарного

О некоторых особенностях теплофизических свойств воды...

датчика температуры измерительного блока термостатировались этой же деталью. Геометрия измерительного блока показана на рис. 1. Для обработки электрических сигналов применяли аналого-цифровой преобразователь на три десятичных разряда со временем двойного интегрирования 1,2 с. Входной сигнал АЦП мог быть скомпенсирован в пределах шести десятичных разрядов.

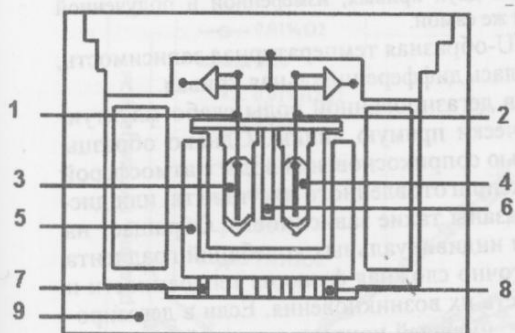


Рис. 1. Схема установки для дифференциальной калориметрии водных сред. 1,2 - датчики разницы температур эталонной и измерительной камер; 3,4 - эталонная и измерительная камеры; 5 - термостат (медь); 6 - датчик абсолютной температуры; 7, 8 - нагреватель (охладитель) - элемент Пельтье; 9 - защитная оболочка (медь).

Измерения проводили в режиме неполной компенсации теплоемкости исследуемого вещества теплоемкостью эталона. В качестве эталона использовали компактно уложенную объемную медную сетку. Согласно уравнению для дифференциального термического анализа измеряемая разность температур без

учета радиационных потерь определяется: асимметрией нагрева исследуемого вещества и вещества сравнения, неодинаковыми теплоемкостями исследуемого вещества $C_{рх}$ и вещества сравнения $C_{рз}$, тепловой инерцией и температурной зависимостью теплоемкости исследуемого вещества, изменениями теплопроводности исследуемого образца, параметрами измерительного элемента,

$$\Delta T = \alpha * (M_x * C_{рх}(T) * V_1 - M_z * C_{рз} * V_2 + \lambda_x(T) * V_3 - \lambda_z * V_4) * dT/dt$$

Здесь ΔT - измеряемая разность температур, α - характеристика измерительного электронного тракта, M_x и M_z - массы измеряемого и эталонного веществ, $C_{рх}$ и $C_{рз}$ - теплоемкости образца и эталона соответственно, $\lambda_x(T)$ и λ_z - теплопроводности образца и эталона соответственно, V_1, V_2, V_3, V_4 - коэффициенты, учитывающие геометрические и другие факторы установки, dT/dt - скорость сканирования (нагрева).

Образцы водных растворов в стеклянной ампуле устанавливали в измерительный блок, погружали полупроводниковый датчик температуры и выдерживали для достижения теплового равновесия и получения стабильных результатов от двух часов до суток. Все последующие манипуляции с установкой исключали механическое возмущение образца после установки ампулы. Нагрев измерительного блока проводили со скоростью 0,2-0,5 градуса в минуту. Как правило, с каждым образцом проводили только единственное измерение с целью исключения влияния предыстории на характер термического ответа. В некоторых случаях кроме развертки «нагрев» с тем же самым образцом проводили цикл «охлаждение». В качестве объектов исследования использовались: вода дистиллированная дегазированная, вода дистиллированная с растворенным кислородом, вода обычная водопроводная; водные растворы NaCl, CaCl₂, в концентрациях, характерных для плазмы крови человека; водные растворы центрифугированной плазмы крови человека.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные зависимости разности температур образцов воды с различными примесями и медного эталона от температуры нагрева представляют собой плавные U образные кривые с не воспроизводимыми в деталях осцилляциями амплитудой до 0,1 °C. Как следует из сравнения пове-

дения различных образцов воды (см. рис. 2), а также предусмотренных методических мер по устранению возможности наблюдения локальных температурных градиентов в жидкости, температурные колебания теплофизических характеристик растворов не связаны с конвективными потоками, а отражают процессы структурных перестроек в среде. Они закономерно происходят только в определенном диапазоне температур по типу переходов «смешение-расслоение» или «золь-гель переходов».

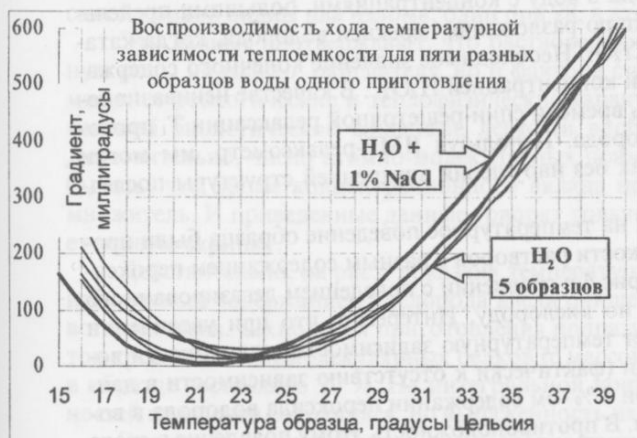


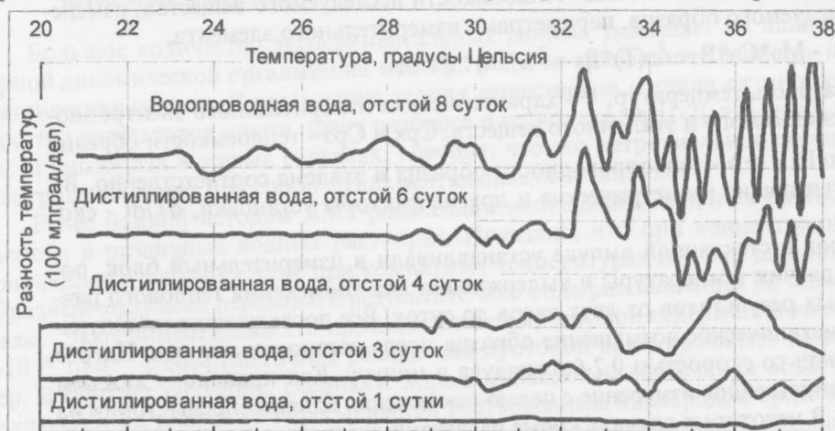
Рис. 2. Характеристика воспроизводимости методики измерения температурной зависимости теплоемкости воды в биологически значимом диапазоне температур.

На рисунке 2 приведены интегральные кривые для пяти образцов дегазированной воды, приготовленных из одного базового раствора. Полностью дегазированная дистиллированная вода ведет себя в соответствии с литературными данными. Поскольку динамический диапазон изменения температур (по сравнению с точностью измерения) достаточно большой, для более наглядного представления о развивающихся в среде процессах производили выделение осцилляций путем вычитания двух кривых, измеренной и полученной сглаживанием (последовательным усреднением по 12 точкам) той же самой.

При этой процедуре фактически устранялась плавная U-образная температурная зависимость, просматриваемая в интегральном представлении, и получалась дифференциальная кривая.

Дифференциальная кривая представляет для образцов дегазированной воды слабо флуктуирующую в пределах собственных шумов системы практически прямую линию. Однако образцы этой же воды, выдержанные в колбе с большой поверхностью соприкосновения воды с атмосферой в течение нескольких суток, ведут себя уже отлично от свежеприготовленного дистиллята, или дистиллята, хранившегося без доступа воздуха. На рис. 3 показаны такие зависимости. Обращает на себя внимание следующий факт. При невоспроизводимости индивидуальных колебаний градиента температур (как видно из предыдущей формулы это достаточно сложная функция теплоемкости и теплопроводности) тем не менее, остается постоянной область их возникновения. Если в дегазированной воде осцилляции не проявляются вообще, то в воде, имевшей контакт с атмосферным кислородом, они проявляются в зависимости от длительности экспозиции. Характерно, что с увеличением их амплитуды происходит и смещение начала колебаний в сторону низких температур.

Тот факт, что наличие примесей в воде столь радикально меняет ее теплофизические характеристики, иллюстративно проявляется на примере обычной водопроводной воды, состав которой



весьма далек от требований к лабораторным условиям. Попытки использования «свежих» образцов водопроводной воды приводили к невозможности проведения измерений, поскольку не удавалось провести первоначальную балансировку системы.

Рис. 3 Дифференциальные кривые поведения образцов воды с разной степенью насыщения газами атмосферы.

Первоначальные флуктуации температуры были столь велики, что превышали динамический диапазон электронных схем. Только через восемь суток отстоя в стандартных условиях удалось провести запись цикла нагрева, что показано на верхней кривой рисунка 3. Из этого графика видно, что имеющаяся совокупность примесей в типичной «киевской» водопроводной воде приводит к заметному снижению температуры начала осцилляций. Кроме того, весьма интересно, что сам характер колебаний имеет тенденцию увеличения частоты по мере повышения температуры.

Проблема дозированного насыщения воды кислородом и контроля его содержания решалась нами следующим образом. Для введения кислорода в воду с концентрациями, большими предельного значения насыщения, мы использовали реакцию разложения перекиси водорода, когда катализатором являлся двуххромовокислый калий $K_2Cr_2O_7$. Необходимое значение конечного содержания кислорода в растворе определялось начальной концентрацией H_2O_2 . В качестве неинвазивного метода контроля мы использовали зависимость времени спин-решеточной релаксации T_1 протонов воды от концентрации растворенного кислорода. Используя ЯМР-релаксометр, мы могли контролировать содержание кислорода в образцах без нарушения внутренней структуры последних.

Чтобы оценить влияние остаточной перекиси на температурное поведение образца были проведены стандартные измерения динамики теплоемкости растворов с разным содержанием пероксида водорода. Интегральные кривые показаны на рис. 4 в сравнении с поведением дегазированного дистиллята и воды с двукратным пересыщением по кислороду. Интересно, что при увеличении концентрации перекиси в водном растворе снижает температурную зависимость теплоемкости воды, приближая ее к поведению металлической меди (фактически к отсутствию зависимости в данном диапазоне). Это проявляется в том, что уже при 3 %-ом содержании пероксида водорода в воде исчезают всякого рода температурные аномалии. В противоположность этому появление в среде молекулярного кислорода приводит к появлению особенностей.

О некоторых особенностях теплофизических свойств воды...

На верхней интегральной кривой видно, что при температуре около 36 градусов Цельсия появляется «излом» кривой относительно «эталонного» поведения. Это четко наблюдается уже при двукратном превышении концентрации растворенного кислорода по отношению к значению насыщения при комнатной температуре. То есть кроме «узких» в температурном смысле особенностей наблюдаются и интегральные изменения поведения раствора при температурах, близких к температуре тела теплокровных живых существ.

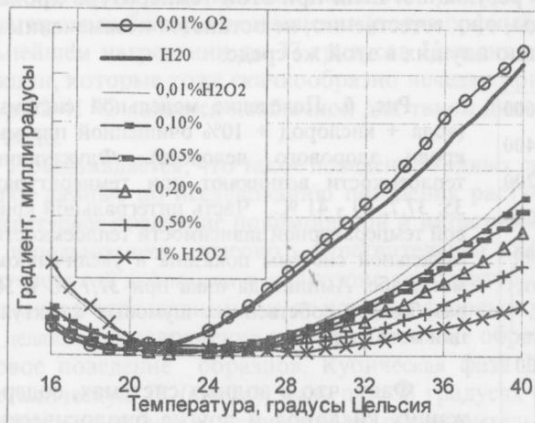


Рис. 4. Изменение температурного поведения теплоемкости воды при добавлении в нее перекиси водорода. В качестве образца сравнения используется металлическая медь. Нижнее семейство кривых принадлежит растворам с концентрацией от 0,01 % (верхняя кривая) до 3-15 % (совокупность сливающихся кривых вдоль оси X). Средняя кривая характеризует дегазированный дистиллят, самая верхняя кривая — вода с концентрацией искусственно введенного кислорода $N=6,2 \cdot 10^{17} \text{ л/см}^3$

слорода. На рис. 5 показана динамика системы с содержанием кислорода порядка $3 \cdot 10^{18} \text{ л/см}^3$. К сожалению, более точно указать это значение не представляется возможным, поскольку система является сильно неравновесной и без специальных стабилизаторов кислород за время эксперимента (около 5 часов) частично выделяется из среды.

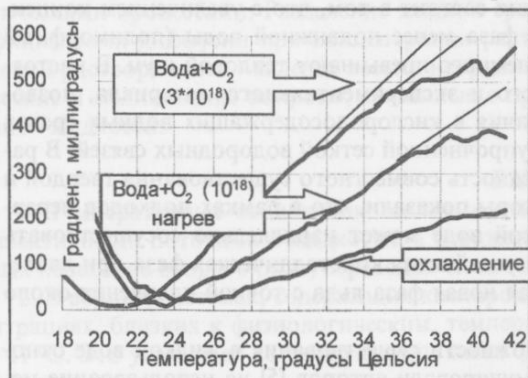


Рис. 5. Температурная зависимость теплоемкости модельной системы (вода + кислород) при концентрации, достигающей его значений в артериальной крови человека. Наклон интегральной кривой испытывает два «излома» при 28 и 36 °C.

Хорошо видно, что в режиме нагрева при температуре 36 °C поведение системы радикально меняется. В среде происходят какие-то фазовые перестройки, приводящие к триггерному возрастанию теплоемкости. И поскольку система по своему качественному содержанию является чрезвычайно простой (практически двухкомпонентной, если подразумевать только комбинации

атомов водорода и кислорода), то про ее структурную организацию этого сказать нельзя. Именно структурные преобразования и ответственны за изменение интегральных теплофизических характеристик.

При увеличении степени неравновесности (критичности) среды за счет увеличения концентрации кислорода до его значений в артериальной крови человека по виду интегральной кривой можно наблюдать поведение, которое можно характеризовать как два структурных перехода. На самой кривой видны два излома, один при 28, а второй при 36 °C.

Эти данные подтверждают, что растворенный кислород играет у теплокровных первостепенную роль не только окислителя, но и фактора структурной организации жидкостной среды, формируя ее реологические и теплофизические характеристики. Говоря о внеклеточной многокомпонентной биологической жидкости, легко (и вообще-то обоснованно) возразить такому выводу. Действительно, число атомно-молекулярных примесей в плазме крови огромно. Но не следует забывать, что кроме концентрационного вклада необходимо учитывать и их конкретный весовой множитель. И приведенные данные говорят только о том, что в этом сводном хоре кислород играет первую скрипку.

Действительно, на рис.6 показана температурная динамика модельной системы, когда в воду с избыточным содержанием кислорода ввели очищенную центрифугированную плазму крови здорового человека. Технология приготовления подразумевала удаление из плазмы форменных элементов крови и высокомолекулярных белков (с массой более 500 000). Процентное содержание плазмы в образце составляло 10 %. На интегральной кривой видно, что диапазон возникновения особенностей поведения сохранился, но выраженность их стала больше.

Это особенно видно слева, где показана часть той же самой кривой в другом масштабе, когда детали прорисовываются более четко. Так видно, что самый интенсивный пик, амплитуда которого

го в полсотни раз превышает собственный шум регистрирующей аппаратуры, возникает при температуре 37,7 °C. Мы предполагаем, что такое совпадение со значением внутренней температуры человеческого организма далеко не случайно, поскольку в модельной системе присутствуют основные компоненты раствора, задающие физический «репер», относительно которого система более высокого уровня осуществляет температурную регуляцию. Если при этой температуре происходит некое фазовое превращение жидкостной среды, оно, естественно, не останется незамеченным всем каскадом биохимических процессов, параллельно идущих в этой же среде.



Рис. 6. Поведение модельной системы (вода + кислород + 10% очищенной плазмы крови здорового человека). Флуктуации теплоемкости возникают при температурах 35; 37,7; 40 - 41 °C. Часть интегральной кривой температурной зависимости теплоемкости модельной системы показана в увеличенном масштабе. Амплитуда пика при 37,7 °C в 50 раз больше собственных шумовых флуктуаций методики.

Факт, что в водных системах, содержащих кислород и другие биологически значимые примеси в концентрациях, близких к физиологическим, температуры

структурных перестроек находятся в узком диапазоне 35 - 42 °C заслуживает особого внимания. Это указывает на возможную роль жидкостного гомеостаза организма человека как чисто физического фактора в температурной регуляции.

Наиболее вероятная интерпретация этого явления состоит в том, что с увеличением концентрации растворенного кислорода в воде возникает фаза менее подвижной воды (полиморфный лед), энергетические характеристики которой лишь немного превышают тепловой шум. В настоящее время накоплено уже достаточно теоретического и экспериментального материала, позволяющего трактовать наши данные в контексте наличия в кислородосодержащих водных средах структурных долгоживущих состояний, связанных с упрочненной сеткой водородных связей. В работе [4] впервые теоретически строго показана возможность совместного существования твердой и жидкой фаз воды при комнатных температурах. Авторы показали, что в рамках подходов неравновесной молекулярной динамики (NEMD) в жидкой воде может параллельно сосуществовать многообразие фаз льда. В отличие от обычной воды устойчивая кристаллическая фаза при давлении 1 бар - не гексагональный лед I, а более плотная новая фаза льда с точкой плавления около 295 K (22 градуса Цельсия).

Непрекращающиеся дискуссии о реальной возможности существования в жидкой воде относительно стабильных структурных образований стимулировали авторов [5] на использование метода рентгеновской дифракции для анализа вызванных магнитным полем (0,3 Т) изменений в жидкой воде. Анализ рентгенограмм четко показал наличие долгоживущих квазикристаллических структур в экспонированных образцах. Авторы утверждают, что магнитная экспозиция жидкой воды формирует структуры полиморфного льда, причем количественные и качественные характеристики последнего определяются предысторией образца, направлением магнитной индукции и длительностью экспозиции. Магнитоиндуцированный полиморфный лед упорядочивается в спиральные структуры при комнатной температуре. Эти данные представляют огромный интерес в биологическом контексте. Даже не говоря о самом магнитном поле, разговор о котором заслуживает отдельного раздела, факт самосборки стабильных (долгоживущих) спиральных структур из молекул воды (и примесей в ней находящихся) указывает на возможность непосредственного управления водной средой процессами пространственного перемещения атомов и молекул в растворе. Можно предположить, что кислород в водной среде является одним из основных «организаторов» таких процессов.

Сходные по физическому результаты данные были получены нами ранее [3] при исследовании таких же систем методом протонной релаксации. Напомним, что в процессе насыщения воды кислородом из реакции разложения перекиси водорода при определенной (критической) концентрации наблюдалось два фазовых состояния системы. Поскольку измеряемой характеристикой системы служило время спин-решеточной релаксации протонов воды, наблюдаемая картина подразумевала появление двух (по меньшей мере) подсистем с разной силой связи протонов с решеткой. Объемная доля каждой фракции сильно зависела как от внутренней динамики системы, так и от изменения внешних условий. Условно говоря, соотношение «свободной» и «связанной» воды при закритическом содержании кислорода в растворе является динамичной величиной, чувствительной к температурным, полевым, механическим и другим влияниям. Интересно, что реакция таких систем

на температурное воздействие качественно совпадает с выше приведенными данными. Как только система выходила на некоторый стационарный режим, протокол эксперимента предусматривал плавное повышение температуры образца, находящегося в зазоре магнита релаксометра. Измерение релаксационных характеристик среды производилось непрерывно в ходе нагрева. При наблюдении реального хода кривых оказалось, что при повышении температуры до 31 градуса сначала отреагировала быстрая компонента (полиморфный лед), перейдя в более свободную фракцию. При дальнейшем нагревании до 37 градусов Цельсия скачком изменились характеристики медленной фракции, которые тоже скачкообразно исчезли при температурах выше 40 °С. Т.е. область температур 32-41 °С является необычной для такой динамической системы, как пересыщенная кислородом вода.

Представляется, что такое поведение водных сред далеко не уникально. В этом плане наиболее близки данные по исследованию поведения растворов моноэлаидина. Так в работе [6] изучалось температурное поведение полиморфной и метастабильной фазы сухого и растворенного моноэлаидина с использованием высоко-чувствительной дифференциальной сканирующей калориметрии и рентгеновской дифракции в диапазоне температур от 4 °С до 60 °С. Чтобы преодолеть трудности, связанные с теплозависимым от истории фазовым поведением, калориметрия и измерение дифракции делались одновременно на одних и тех же образцах. Первичное сканирование показало сложное фазовое поведение образцов. Кубическая фаза L (с0) преобразовалась в ламеллярную жидкокристаллическую (L (альфа)) фазу при 38 градусах С. При 45 °С также проявились множественные неразрешенные линии, которые были предварительно отнесены к так называемой X фазе.

Таким образом, в изучаемых системах температура меняет не только теплофизические, но и другие характеристики среды. Для пересыщенных водных растворов кислорода наблюдалась [3] неэкспоненциальная релаксация протонов, указывающую на возникновение, по крайней мере, двух состояний (фаз), в которых находятся молекулы воды в модельных средах. Пространственно-временные характеристики возникающих фракций соизмеримы по масштабам с типичными биологическими процессами. Разделение жидкой среды на фазы с существенно различающимися коэффициентами диффузии при концентрации растворенного молекулярного кислорода выше предельной растворимости - явление весьма неординарное и может помочь ответить на многие биологические и медицинские вопросы, связанные с проблемами его транспорта во внутри- и внеклеточной жидкости.

ВЫВОДЫ

1. Температурные осцилляции теплоемкости изученных модельных растворов не связаны с конвективными потоками в жидкости, а отражают процессы структурных перестроек по типу фазовых переходов второго рода, переходов типа «смешение-расслоение» или «золь-гель переходы».

2. В водных системах, содержащих кислород и другие биологически значимые примеси в концентрациях, близких к физиологическим, температуры фазовых переходов находятся в диапазоне 35- 41 °С. Это указывает на важную роль чисто физических факторов в температурной регуляции организма человека.

3) Молекулярный кислород, растворенный в водной среде в условиях реального газообмена в периферических тканях биообъектов, может служить фактором, приводящим к пространственной модуляции реологических характеристик (коэффициентов диффузии) жидкости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bos, G., Hoofd, L. Oostendorp, T., Reconsidering the effect of local plasma convection in a classical model of oxygen transport in capillaries, *Microvasc. Res.*, 51 (1):39-50 (1996)
2. Dutta, A., Popel, A.S.: *J.Theor. Biol.*, 176 (4):433-445 (1995)
3. Andreyev Ye.A., Kovryzhenko O.M., Nikishina N.G., Peculiarities of the Processes of Proton Subsystems Ordering in Oxygen Water Solution, *Physics of the Alive*, v.1, No 1(1993), pp.93-103.
4. Baez, L.A., Clancy, P.: Phase equilibria in extended simple point charge ice-water systems, *J.Chem.Phys.*, 103(22):9744- 9755 (1995)
5. Rai, S., Singh, U.P., Singh, A.K.: X-ray determination of magnetically treated liquid water structures, *Electro Magnetobiol.*, 14(1):23- 30 (1995)
6. Chung, H., Caffrey, M.: Polymorphism, mesomorphism, and metastability of monoelaidin in excess water, *Biophys.J.*, 69(5): 1951-1963 (1995)

БЮФІЗИКА СКЛАДНИХ СИСТЕМ

УДК 581.14.087:634.8.047

МОНІТОРИНГ КСИЛЕМНОГО ПОТОКА ВИНОГРАДА

А.Т. Гиль

Институт винограда и вина «Магарач», ул. Кирова, 31, Ялта-334200, Крым, Украина
тел.: 0654-322467, e-mail: adonis@yalta.iuf.net

Поступила в редакцию 4 января 1999 г.

В работе представлены результаты измерения количественной величины ксилемного потока, измеренной методом теплового баланса фрагмента стебля на многолетней гетерозиготной культуре – виноградной лозе. Обращено внимание на непрерывность измерений и отсутствия повреждений объекта исследований, показано полное соответствие исследований основным положениям фитомониторинга. Даны результаты экспериментов, проведенных в искусственных и естественных условиях. Показана высокая корреляция с оценкой транспирационных расходов, полученной методом контрольных взвешиваний. Приведены примеры использования полученных биологических результатов в практическом сельскохозяйственном производстве.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: водный режим, фитомониторинг, орошение, ксилемный поток, балансовый метод

Не трудно заметить общую тенденцию развития методов функциональной диагностики растений в направлении не повреждающего, непрерывного мониторинга. Подобная тенденция вызвана внутренней логикой развития физиологии растений с одной стороны [1], с другой стороны она определяется практическими нуждами. Действительно, в условиях стремительно нарастающего дефицита воды во всем мире, перед сельским хозяйством, потребляющим около 80% всей расходуемой пресной воды, в первую очередь, встает проблема строгой экономии и рационального использования водных ресурсов. Не случайно, в связи с этим, в орошаемом земледелии все большее распространение получают локальные способы орошения, одним из преимуществ которых является возможность строгой дозировки и полной автоматизации полива. В связи с этим наиболее перспективными из физиологических методов контроля водного режима виноградников представляются те, на основе которых возможно создание систем автоматизированного управления орошением. Этим условиям отвечают экспериментальные методы и алгоритмы фитомониторинга.

Под фитомониторингом понимают совокупность не повреждающих методов и специальных информационно-измерительных систем, позволяющих получать непрерывно и одновременно информацию о разных сторонах жизнедеятельности интактного растения и регистрировать динамику изменения показателей жизнеспособности в ответ на действия тех или иных экзогенных или эндогенных факторов [2].

В современных системах орошения до настоящего времени используются агрометеорологические параметры среды. Лучших результатов можно достичь при использовании самого растения в качестве индикатора состояния виноградника. При орошении, осуществляемом на основе полученной картины, учитывается реальная потребность растений в воде с учетом её доступности из любых источников (дождь, родник и пр.), а также дифференциальная физиологическая способность растения использовать воду.

Влагоперенос в системе почва-растение-атмосфера происходит по градиенту водного потенциала: от корневой системы через тело растения в атмосферу. По разработанным методам фитомониторинга этот процесс достаточно полно характеризуется показаниями датчиков диаметра, скорости ксилемного потока и разности температур, установленными на корень, штамб, побеги, лист и другие органы. Однако до недавнего времени в рамках методологии фитомониторинга не существовало методов количественной оценки транспирационных расходов в растении, столь необходимой для построения современных систем автоматического управления орошением и для решения биологических задач.

Наиболее подходящим для решения поставленной задачи в теоретическом отношении является метод теплового баланса [3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Метод теплового баланса успешно применяется при изучении количественных характеристик влагопереноса в стволах деревьев [4], в зелёных побегах и стеблях [3]. Недавно применимость этого метода была показана на зелёных побегах винограда [5]. Сложная структура тепловых потоков в многолетних частях растения затрудняет измерение ксилемного расхода. Обычно наилучшие результаты имеют место при хорошей оводненности ткани в месте измерения.

В соответствии с теорией по методу теплового баланса количественно массу воды, пройденную через рассматриваемый фрагмент стебля, можно выразить следующим уравнением:

$$F = \frac{Q - \lambda A_u \Delta T_u / \Delta x - \lambda A_d \Delta T_d / \Delta x - k \Delta T_s}{c \Delta T_f} \quad (1)$$

где F - скорость водного потока в штамбе [Кг/с],

Q - тепловая энергия нагревателя [Вт],

c - удельная теплоемкость воды [Дж/Кг*°С],

ΔT_f - разность температур выше и ниже нагревателя [°С],

ΔT_u и ΔT_d - разность температур верхнего и нижнего датчиков теплопроводности штамба соответственно [°С],

λ - удельная теплопроводность штамба [Вт/м °С],

A_u и A_d - площади поперечного сечения нагретого фрагмента вверху и внизу соответственно, [м²],

k - коэффициент, связанный с теплопроводностью резины, с формой и размером датчика [Вт/°С],

ΔT_s - разность температур между внутренней и внешней сторонами датчика [°С].

Δx - участок измерения теплопроводности штамба [мм*10⁻³],

Все разности температур измерены при помощи термопар и непрерывно регистрируются компьютером. Остальные величины являются постоянными коэффициентами. Для вычисления используется преобразованная формула (1), с учетом $\lambda A / \Delta x = n$:

$$F = \frac{Q - n(\Delta T_u + \Delta T_d) - k \Delta T_s}{c \Delta T_f} \quad (2)$$

Для биологической калибровки проводят модельный эксперимент. Растение высаживают в вегетационный сосуд, пригодный для взвешивания вместе с растением (рис. 1). Проводят одновременное взвешивание и измерение методом теплового баланса. Для измерения величины потока через штамб, его очищают от верхнего слоя коры и оборачивают полоской медной фольги для равномерного прогрева. Фольгу обматывают одним слоем фторопластовой плёнки, на которую наматывают нихромовую проволоку (0.09 мм), служащую нагревателем. Сверху нагреватель обматывают ещё одним слоем фторопласта и теплоизолирующим слоем (например, резины толщиной 0.8-1.5 мм). Разности температур, необходимые для вычисления величины потока, измеряются при помощи медь-константановых термопар. Тепловая энергия нагревателя определяется как произведение величины тока на напряжение, и является величиной постоянной.

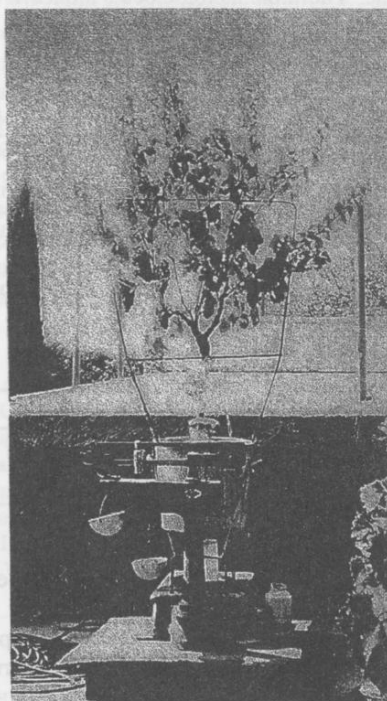


Рис.1. Виноградное растение (сорт Пино Черный) на весах в вегетационном сосуде.

Как показано выше, для вычисления величины потока по методу теплового баланса, достаточно непрерывно измерять разности температур ΔT_f , ΔT_u , ΔT_d , ΔT_s . Остальные величины либо измеряются один раз в начале эксперимента, либо являются константами.

Для практической реализации этих теоретических представлений нами разработан датчик, состоящий из стеклотекстолитового корпуса, четырех медь - константановых термопар, нагревателя и теплоизолирующего экрана. Для измерения ксилемного потока на винограде, датчик необходимо устанавливать на многолетней части, лучше всего на штамбе [1]. При этом транспирационный расход растения можно определять путём измерения величины ксилемного потока, осуществляемого методом теплового баланса.

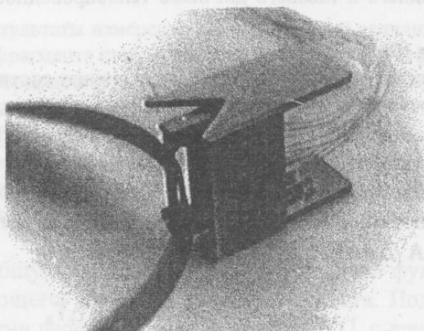


Рис.2. Внешний вид датчика для измерения ксилемного потока.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования проводились на станции фитомониторинга «Магарач» в 1994 г.

С помощью разработанного датчика и аппаратуры были проведены измерения динамики ксилемного потока через фрагмент штамба винограда сорта Пино Черный. Диаметр фрагмента штамба составил 15 мм, длина 17 мм. Мощность нагревателя 0,5 Вт. Эксперименты проводились в лабораторных и полевых условиях.

В таблице 1 приведены сравнительные результаты посуточных измерений ксилемного потока по методу теплового баланса (расчет) через фрагмент штамба растения и с помощью взвешивания (факт) этого растения в вегетационном сосуде. Растение находилось в климатической камере. Был использован датчик ксилемного расхода с наружным разогревом.

Таблица 1

дата	18.04	19.04	20.04	24.04
факт	0.870	1.090	0.880	0.600
расчет	0.934	1.014	0.943	0.654

Коэффициент корреляции между расчетными и контрольными данными составил $r = 0.95$.

При проведении экспериментов в естественных условиях при использовании датчика с наружным разогревом получены результаты, приведенные в таблице 2.

Таблица 2

дата	27.07	28.07	29.07	30.07	31.07
факт	2.590	2.850	1.950	0.780	0.840
расчет	2.021	2.715	1.795	0.545	0.509

Коэффициент корреляции при этом составил $r = 0.983$.

Использование внутреннего разогрева имеет ряд преимуществ перед наружным, при измерении на многолетних частях растения. Во-первых, само растение выполняет функцию теплоизолятора. Во-вторых, конструкция датчика становится более технологичной и его характеристики более повторяемыми при тиражировании. По этим причинам были проведены эксперименты в естественных условиях при использовании датчика с внутренним разогревом. Результаты эксперимента приведены в таблице 3.

Мониторинг ксилемного потока винограда

Таблица 3

дата	12.08	13.08	20.08	21.08	23.08
факт	1.650	1.650	0.550	0.440	0.630
расчет	1.670	1.450	0.510	0.410	0.654

Коэффициент корреляции $r = 0.94$.

Типичная величина расхода воды в экспериментах составила: ночью – 5 грамм/час, днем – до 80 грамм/час. Суточный ход почасовых измерений ксилемного потока, рассчитанных описанным выше методом, представлен на рис. 3. Каждая полоска соответствует величине ксилемного расхода, накопленной за час. В пределах часа скорость расхода не остается постоянной. Так в утренние часы (7 – 8 часов) датчик показывает скорость ксилемного расхода до 130 грамм/час, но это длится лишь несколько минут. В целом за час расход не превышает значения 80 грамм/час.

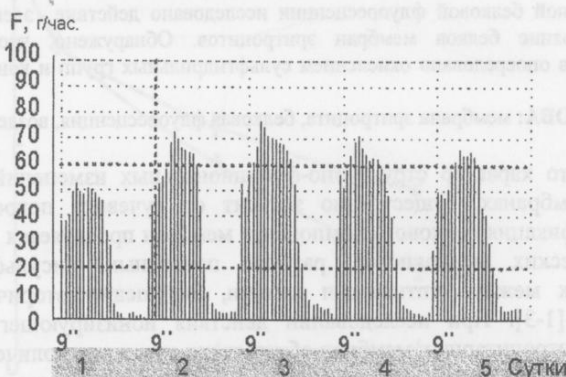


Рис.3. Почасовые расходы винограда в течение 5 суток.

Коэффициент корреляции между расчетными значениями ксилемного потока, полученными методом теплового баланса, и результатами посуточных взвешиваний составил 0,97. Это свидетельствует о достоверности оценки транспирационных расходов виноградаря средствами фитомониторинга.

ВЫВОДЫ

Полученные результаты показывают возможность мониторинга за состоянием ксилемного потока растения в искусственных и естественных условиях. Последнее особенно важно, так как в современных технологиях возделывания винограда становится возможным «включение» виноградного растения в общую систему регулирования водного режима виноградника. Такое соединение возможно благодаря широкому внедрению в виноградарстве современных систем микро орошения (в первую очередь, капельно-го), развитию методологии фитомониторинга в виноградарстве.

Таким образом, методология фитомониторинга располагает средствами для реализации в современных технологиях возделывания винограда целенаправленного воздействия на качество продукции за счет оперативного управления водным режимом растений. Очевидно, подобное оперативное управление позволит успешно разрешать задачи получения высоких урожаев, обеспечивая рентабельность производства винограда с повышением качества винограда и вин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нилов Н.Г. Основная задача фитомониторинга в виноградарстве. // Виногр. и винод. 1993. N 1-2, с.11-15
2. Лялин О.О., Радченко С.С., Карманов В.Г. Проблемы фитомониторинга на современном этапе // Физические методы и средства получения информации в агромониторинге. – Л. – с. 30-35.
3. Sakuratani, T., 1981: A heat balance method for measuring water flux in the stem of intact plants. J. Agr. Met., 37, 9-17.
4. Cermak, J., Kucera, J. and Penka, M., 1976: Improvement of the method sap flow rate determination in full-grown trees based on heat balance with direct electric heating of xylem. Biol. Plant., Praha, 18, 105-110.
5. Lascano, R.J., Baumhardt, R.L., Lipe, W.N., 1992 Measurement of Water Flow in Grapevines using the Stem Heat Balance Method. Am. J. Enol. Vitic. Vol. 43: (2)

ДЛЯ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ НА БІОБ'ЄКТИ

УДК 577.352.335 + 577.336.

ФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ РАДИАЦИИ НА СТРУКТУРУ БЕЛКОВ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАН**В.В. Товстяк***Харьковский государственный университет, 310077, г.Харьков, пл.Свободы, 4*

Поступила в редакцию 1 февраля 1999

Методом собственной белковой флуоресценции исследовано действие электронов с энергией 5 МэВ на структурное состояние белков мембран эритроцитов. Обнаружено, что радиационное повреждение мембранных белков опосредовано окислением сульфгидрильных групп и конформационными изменениями белковых молекул.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мембрана эритроцита, белковая флуоресценция, воздействие радиации.

Известно, что характер структурно-функциональных изменений, индуцируемых радиацией в биологических мембранах, существенно зависит от лучевого повреждения мембранных белков. Радиационная модификация белкового компонента мембран проявляется в окислении сульфгидрильных групп и ароматических аминокислот, разрыве пептидных, дисульфидных, водородных связей, образовании сшивок между пептидными цепями, нарушении вторичной и третичной структуры белковых молекул [1-3]. При исследовании действия ионизирующего излучения на структурное состояние белков эритроцитарных мембран обнаружено снижение количества поверхностных SH-групп [4,5], изменение степени экспонированности аминогрупп [6] и остатков тирозина [7], увеличение полярности и ограничение подвижности микроокружения белковых триптофанилов [8]. Вместе с тем, в литературе имеются лишь единичные сведения о закономерностях влияния радиации на структурно-динамические свойства белковой фазы мембран эритроцитов.

Цель настоящей работы заключалась в исследовании радиационно-индуцированных изменений структуры белкового компонента теней эритроцитов методом собственной флуоресценции белков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Тени эритроцитов выделяли из крови быка или свиньи по методу [9] и суспендировали в 5мМ Na-фосфатном буфере, pH -7.4. Концентрацию белка в препаратах мембран определяли по методу Лоури [10].

Возбуждение и регистрацию флуоресценции остатков триптофана осуществляли на длинах волн 296 нм и 330 нм соответственно.

Препараты мембран облучали на линейном ускорителе пучком электронов с энергией 5 МэВ в дозах 100-1000 Гр.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

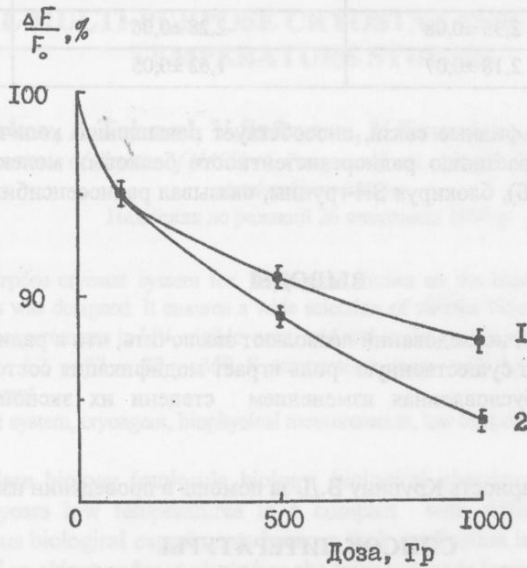
Как видно из рис.1, облучение приводит к снижению интенсивности триптофановой флуоресценции теней эритроцитов. Этот эффект усиливался с увеличением дозы облучения и времени пострадиационной инкубации исследуемых препаратов мембран. При интерпретации полученных данных следует рассмотреть два фактора, которые могут определять радиационно-индуцированное снижение флуоресценции белков: а) радиоллиз остатков триптофана и б) изменение физических характеристик микроокружения триптофанилов, в частности, его полярности и подвижности. Одним из подходов к оценке соотношения этих факторов является сравнение флуоресценции контрольных и облученных образцов в условиях одинаковой доступности ароматических остатков растворителю, например, при воздействии денатурирующих агентов. Проведенные эксперименты показали, что 6-часовая инкубация теней эритроцитов в присутствии 8 М мочевины не приводит к заметному уменьшению различий между контрольными и облученными препаратами мембран. На основании этих результатов можно сделать вывод, что обнаруженное снижение флуоресценции эритроцитарных мембран в определенной мере обусловлено радиоллизом остатков триптофана при воздействии пучка электронов. Вместе с тем, нельзя исключить возможность участия структурных перестроек белков в возникновении наблюдаемых изменений. Об этом, в частности, свидетельствуют усиление радиационного эффекта в процессе инкубации исследуемых образцов после облучения и модифицирующее влияние химических агентов на степень лучевого поражения мембранных белков. Как

Флуоресцентное исследование действия радиации на структуру белков...

известно, радиационное повреждение компонентов мембраны может быть следствием прямого и/или опосредованного радиолизом среды действия ионизирующего излучения [11,12].

Рис. 1 Изменение интенсивности триптофановой флуоресценции теней эритроцитов быка в зависимости от дозы облучения. Условия пострадиационной инкубации мембран – 1 – 2 часа, 20 °С, 2 – 24 часа, 4 °С.

Для выяснения вопроса о том, участвуют ли продукты радиолиза воды в нарушении структуры белковой фазы мембран эритроцитов было исследовано влияние агентов, модифицирующих опосредованные



эффекты радиации, на характер изменения триптофановой флуоресценции белков. Как видно из представленных в табл. 1 данных, индуцируемое облучением снижение белковой флуоресценции существенно подавляется в присутствии перехватчиков радикалов OH - тиомочевина, глицерина и ионола. В то же время, акцептор гидратированных электронов – NaNO₃ и перехватчик синглетного кислорода NaN₃ не оказывали защитного действия на белковые молекулы. Полученные данные позволяют сделать вывод, что в радиационном повреждении белкового компонента эритроцитарных мембран существенную роль играют гидроксильные радикалы.

Таблица 1 Модификация эффекта снижения белковой флуоресценции мембран эритроцитов перехватчиками продуктов радиолиза воды

Модификатор	Интенсивность флуоресценции		Относительное изменение флуоресценции, %
	Контроль	Облучение в дозе 1000 Гр	
Без добавок	2,89 ±0,08	2,53 ±0,06	12,5
Тиомочевина, 60 мМ	2,37 ±0,08	2,31 ±0,04	2,5
Глицерин, 0,6 М	2,74 ±0,06	2,57 ±0,06	6,2
NaNO ₃ , 12 мМ	2,62 ±0,04	2,23 ±0,07	14,9
NaN ₃ , 12 мМ	2,72 ±0,04	2,17 ±0,06	20,2
Ионол, 67 мкМ	2,87 ±0,05	2,82 ±0,07	1,7

Как отмечалось выше, радиочувствительность белковой фазы мембран в значительной мере определяется сульфгидрильными группами белков [12]. В связи с этим представляло интерес исследование действия соединений, модифицирующих состояние SH-групп, на степень лучевого поражения белков. Оказалось, что в присутствии цистамина и дитиотреитола различия между интенсивностями флуоресценции контрольных и облученных образцов существенно уменьшаются (табл. 2). Защитное действие цистамина может быть обусловлено снижением радиационно-химического выхода свободнорадикальных реакций, протекающих в мембранной и водной фазах [12,13].

Таблица 2 Влияние SH-активных соединений на радиационно-индуцированные изменения белковой флуоресценции мембран эритроцитов

Модификатор	Интенсивность флуоресценции		Относительное изменение флуоресценции, %
	Контроль	Облучение в дозе 1000 Гр	
Без добавок	2,77 $\pm$ 0,07	2,29 $\pm$ 0,07	17,3
Цистамин, 14 мМ	2,52 $\pm$ 0,05	2,50 $\pm$ 0,07	0,8
Дитиотреитол, 14 мМ	2,35 $\pm$ 0,08	2,28 $\pm$ 0,06	2,9
ПХМБ 70 мкМ	2,18 $\pm$ 0,07	1,62 $\pm$ 0,05	26,0

Дитиотреитол, разрушая дисульфидные связи, способствует повышению количества экспонированных SH-групп, что приводит к возрастанию радиорезистентности белковых молекул. С другой стороны, парахлормеркурибензоат (ПХМБ), блокируя SH-группы, оказывал радиосенсибилизирующее влияние на белки эритроцитарных мембран.

ВЫВОДЫ

Результаты проведенных исследований позволяют заключить, что в радиационном повреждении структуры мембран эритроцитов существенную роль играет модификация состояния сульфгидрильных групп мембранных белков, обусловленная изменением степени их экспонированности и уровня окисленности.

Автор выражает благодарность Крупину В.Д. за помощь в проведении измерений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузин А.М. Структурно-метаболическая теория в радиобиологии.-М.: Наука, 1986, 284 с.
2. Сунгуров А.Ю. Радиобиология клеточной поверхности // Итоги науки и техники. Сер. Радиационная биология, 1988, Т.7, 179 с.
3. Фоменко Б.С., Акоев М.Г. // Успехи совр. биологии, 1982, Т.93, №2, С.183-195.
4. Sutherland R., Rothstein A., Weed R. // J. Can. Physiol., 1967, V. 69, P. 185-198.
5. Sutherland R., Pihl A. // Radiat. Res., 1968, V. 34, #2, P. 300-314.
6. Фоменко Б.С., Довгий И.Е., Акоев И.Г. // Радиобиология, 1980, Т.20, №4, С. 580-582.
7. Thomas S., Kollman G., Shapiro B. // Radiat. Res., 1973, V. 55, #3, P. 557.
8. Фоменко Б.С. // Радиобиология, 1983, Т.23, №5, С. 607-611.
9. Dodge I., Mitchell C., Hanahan D. // Arch. Biochem. and Biophys., 1963, V. 100, P. 119-130.
10. Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R. // J. Biol. Chem., 1951, V. 193, # 1, P. 265-275.
11. Кудряшов Ю.Б., Беренфельд Б.С. Основы радиационной биофизики, М.: Изд-во МГУ, 1982, 302 с.
12. Пределы модифицируемости лучевого поражения (под ред. Жребченко П.Г.), Атомиздат, Москва, 1978, 216 с.
13. Свистуненко Д.А., Гудзова К.В. // Радиобиология, 1989, т.26, №1, с. 3-7.

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

УДК 621-555.6 (088.8)

THE SPECIAL MULTI-PURPOSE CRYOSTAT FOR BIOLOGICAL LOW TEMPERATURE STUDIES

L.Zharkov, A.Tchmul, V.Safronov, V.Ermakov, G.Dovbeshko

*Institute of Physics of NASU, 46, Prospect Nauki, 252022 Kiev, Ukraine**zharkov@iop.kiev.ua*

Надійшла до редакції 26 листопада 1998 р.

The special multipurpose cryostat system for biological studies on the base of the general use cryostat with specialized manipulators was designed. It ensures a wide selection of various biophysical measurements in the broad spectral range (optical measurements in UV, visible, near, mid and far IR ranges within 0,2 – 25 μ , microwave and X-ray studies) within 1,4 – 4,2 – 77 – 80 – 350 K temperature range with high accuracy ($\pm 0,01$ K) and small consumptions of a cryoagent.

KEY WORDS: cryostat system, cryoagent, biophysical measurements, low temperatures.

Nowadays the modern biology (molecule biology, biological chemistry, etc.) turn towards physics and mathematics. In recent years low temperatures in a complex with different physical methods have been increasingly used in various biological experiments because their application is well known for a resolving of the fine energetic structure of an object under study (when the temperature is lowered thermal vibrations are reduced, leading to cleaner data and more accurate bond length determination) and manifestation of its fundamental properties. For example, from ESR signal lineshape, linewidth and spin relaxation time studies it is possible to look at a spin system behaviour and its interaction with its environment. X-ray and neutron diffraction experiments give a data about the structural phase transitions. Understanding of the detailed structure of proteins, nucleic acids, lipids and other cell components can become possible with the application of the low temperatures and additional external stimulus (magnetic, electrical fields, etc.).

There is a gap in the determination of low temperatures by physicists and biologists. In biology under low temperatures they mean temperature in the range 0 – 27°C (273 – 300 K). From point of view of physicists it is possible conditionally to select 3 ranges of low temperatures:

First range corresponds to the range 300 – 120 K (an air conditioning; a storage of articles of food; a cooling of the chemical reactors).

The second – cryotemperatures – corresponds to the interval 120 – 1 K (the sharing of air and industrial gases – methane, oxygen, hydrogen, helium – and processes of cooling by these liquids).

The third range – the range of super low temperatures – is lower 1 K.

For the biological studies the precise temperature control and stabilization is a great importance for the determination of structural phase transitions, an operation a reverse thermodynamics cycle, etc. In particular, it is very important to go from one temperature to another one with a minimal discreteness while maintaining the capability of the long-time precise stabilization at a selected point.

We have developed the special multipurpose cryostat system for biological studies on the base of the general use cryostat (widely known as UTRECS) and specialized manipulators within 1,4 – 4,2 – 77 – 80 – 350 K temperature range (Fig.1). It ensures wide selection of various biophysical measurements within the broad spectral range (optical measurements in UV, visible, near, mid and far IR ranges within 0,2 – 25 μ , microwave and X-ray studies) with high accuracy ($\pm 0,01$ K). There is helium/nitrogen bath cryostat with liquid helium and liquid nitrogen cans and 4 orthogonal sets of window ports.

Helium vessel (volume 2 L) inside a demountable outer case is surrounded by a copper shield cooled by the liquid nitrogen that fills a nitrogen vessel (2 L). The helium and nitrogen vessels are supported on low-thermal-conductivity thinwall tubes attached to the top cover. The space between the helium, nitrogen vessels and the outer case is vacuated through a vacuum cock. High vacuum is produced by a built-in cryopump.

The load-in column is centered in the outer case and has thermostating chamber as its bottom part. The column is mounted in a gland seal and can be changed in the cryostat base by its introduction from the top.

The cryoagent (gaseous or liquid) is passing under constant pressure stabilized by manostat via the cryostat chamber housing the object under study.

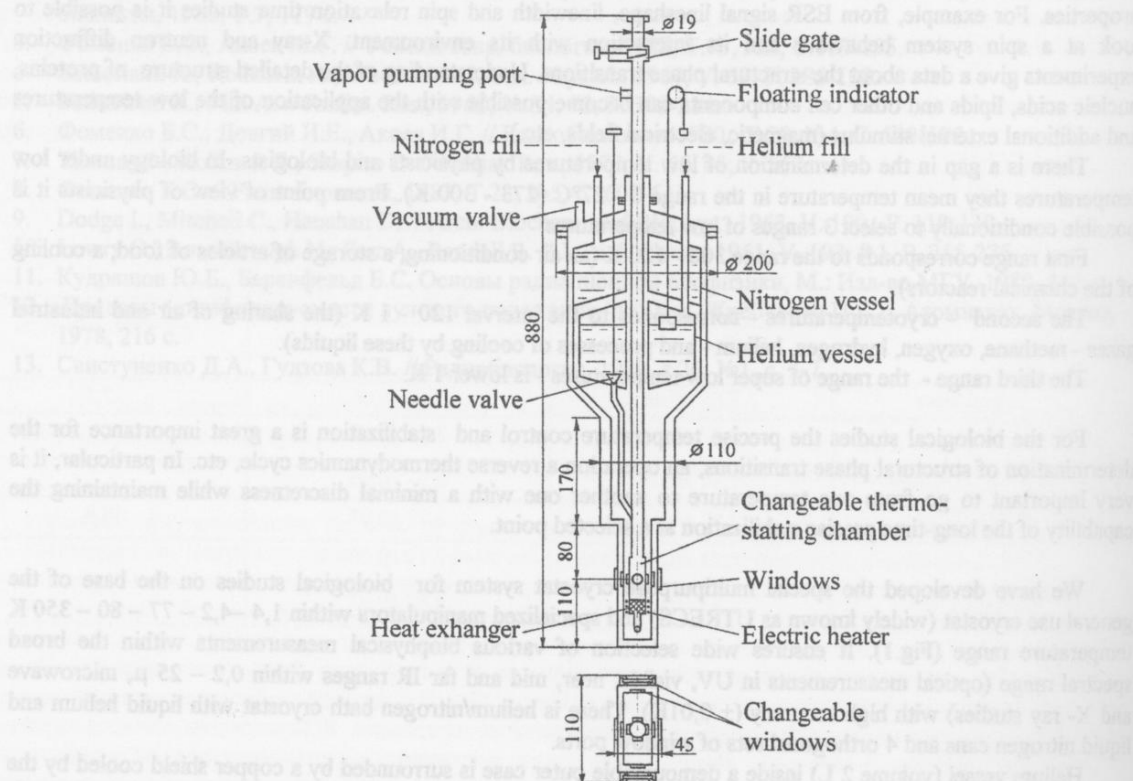
The set-up involves the smart microprocessor temperature controller. With liquid helium or liquid nitrogen as cryoagent it is possible to control the temperature within 1,4 to 350 K and 77 to 350 K, respectively. Automatic and simultaneous control of cooling down and warming-up of the chamber ensures the effective support of a required cryostatting mode with minimal deviation from the preset temperature.

There are some attractive design features of this cryostat:

- the possibility to replace the windows and the internal load-in column with a new set suitable for the operation in a different spectral range;
- the small dimensions of a cryostat tail ensures its easily integrated into a sample section of different commercial spectrometers and into magnets;
- the plug-in working chamber microwave waveguide ensures ESR studies;
- the changeable plug-in sample holders feature various mechanical movements such as rotating both in X- and Y-planes, tilting within $\pm 15^\circ$, etc. The multi-wire connections to the sample area provided as well and transfer additional actions (electrical field, for example). The manipulator is fitted with a temperature sensor and a heater.
- possibility of a quick change of a sample;
- can be used with both liquid helium and liquid nitrogen;
- low cryogen consumption (the time of continuous work not less than 10 hours at value of outer power supply 0,1 W).

Specifications:

Temperature stability, K, not worsely -	$\pm 0,01$
Liquid helium consumption, cm^3/hr -	75
Liquid nitrogen consumption, cm^3/hr -	120



КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

PACS 87.64

NEW OPTICAL METHOD OF DIAGNOSTICS OF THE ENDOGENOUS INTOXICATION OF PHAGOCYTIVE CELLS OF BLOOD PLASMA

L.A.Kernazhitsky, V.V. Naumov, G.A. Puchkovskaya, O.I.Osadchaya

*Institute of Physics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, 252650 Ukraine**Institute of Hematology and Blood Transfusion, Ministry of Health of Ukraine, Kiev 252650 Ukraine*

Recieved October 1, 1998

A new optical express-method of qualitative and quantitative estimation of a functional state of phagocytive cells in the blood of disease patients with severe burns, for immunological monitoring and early prognosis of development of septic complications is proposed. The method is based on real-time registration of the light absorption in the blood samples in UV, visible and near IR spectrum. For measurements, the PC-operated CCD-based multichannel optical spectra analyser is used. Intact blood samples with T- and B- lymphocytes taken from various patients during the period of burn toxemia were investigated. It is found that the greatest absorption in the blood samples containing the phagocytive cells of analytical interest is observed in the spectral region of 560-650 nm. It turns out possible to determine with sufficient sensitivity when and where the light absorption is caused by the presence of T- and B- lymphocytes in the blood samples. This diagnostics correlates with a tendency of endogenous intoxication of neutrophil granulocytes due to the storage of toxins in the blood plasma after the burn injury.

KEY WORDS: blood, lymphocytes, diagnostics, absorption spectroscopy, optical multichannel analyser

INTRODUCTION

In the complex and still insufficiently investigated pathogenesis of the burn illnesses, an important role belongs to the endogenous intoxication, the basic source of which is a burn wound. Because the disease symptoms in the organism after a burn injury are always preceded by changes in the molecular composition of the body fluids, a functional activity of the phagocytive cells - neutrophil granulocytes and monocytes, in the blood is of special important. Accumulation of the products of histogenous decomposition of the blood plasma of the burnt patients and autoantigenes of the burnt leather is resulted in the damage of various links in the system of immunological reactivity. The toxic damage of the immune creates results in the deep infringements in the system of the immune answer. They are caused, first of all, by decrease of the amount and functional inferiority of T- lymphocytes. The expressed deficit of the T- lymphocytes and decrease of their functional activity results in infringement of the immune processes of the control and regulation of the whole immunological reactivity of the organism. Despite of the growing arsenal of the methods of diagnostics of the functional state of neutrofilic granulocytes, there are still no effective criteria allowing to predict the development of septic complications of infective character, and in a number of cases, diagnostics is late. Existing laboratory methods of the studying of the functional activity of neutrofilic granulocytes that used in clyncal practice are labour-consuming, require plenty of materials for investigation and occupy a lot of time for obtaining results [1,2].

The objective of this work is to investigate a new optical express-method of qualitative and quantitative estimation of a functional state of phagocytive cells in the blood of disease patients with severe burns, for immunological monitoring and early prognosis of development of septic complications. This method is based on real-time registration of the light absorption in UV, visible and near IR spectrum in the blood samples using the multichannel optical spectra analyser with sensitive CCD-detectors under the PC control.

MATERIALS AND METHODS

For experiments, intact blood samples were taken from various disease patients with severe burns during the period of burn toxemia. Technique of preparation of blood samples was the same as used in [3]. The contents of T- lymphocytes were 97 % (3 % B - admixture). The output of B- lymphocytes were 92 % (8 % T-admixture). B- and T- samples were rendered on a quartz substrate or in a liquid drop located in a cuvette with the windows. The serum of the blood (with and without of solution of albumin) without T- and B- lymphocytes, and separately an impure solution of albumin were investigated also.

For spectral measurements in the blood samples under investigation, rapid optical multichannel analyser - OMA [4] is used. OMA-system includes polychromator, CCD-camera, controller and computer. CCD-camera has a cooled CCD-detector that consists of the array of 1024 silicon photodiodes. CCD detection maximizes system sensitivity and allows real-time registration and recording of spectra of emission, absorption and fluorescence in the wide range of wavelengths from 200 to 1200 nm in time less than 4 milliseconds. Cooling of

CCD-camera is made by a built - in thermocooler of Pelt'e-type with stipulated measures against steaming up of the entrance window. CCD works through the controller which operates the time of registration, performs the analog-digital transformation and memorises the codes for the subsequent transfer into the computer. Polychromator is intended for spectral resolution of the optical signal in UV, visible and IR region. Diffraction grating with a period 1/300 mm provides an opportunity of registration in different orders of the spectrum. Linear dispersion makes 42 nm/mm in the 1-st spectral order and 2 nm/mm in the 9-th spectral order. At the width of an entrance slit of 0.1 mm, polychromator has a spectral limit of resolution 4.2 nm in the 1-st order and 0.2 nm in the 9-th order. Maximum length of a spectrum in a direction of dispersion is 25 mm. Maximum height of spectral lines is of 5 mm. The principal scheme of the photometric set-up is presented in Fig 1.

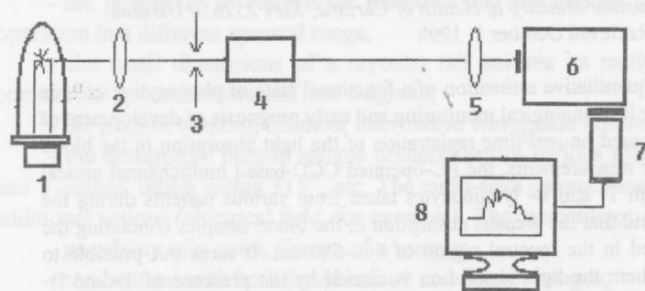


Fig. 1. Experimental set-up for measurements of absorption spectral coefficient in the blood samples.

1 - light source; 2 and 5 - lenses; 3 - diaphragm; 4 - blood sample; 6 - polychromator; 7 - CCD-camera; 8 - computer.

Light from the source (1) with the broadband spectrum of radiation, like gas-discharge D-lamp of DDS-30 type or tungsten band-lamp of SI-200 type, passing through the lens (2) and diaphragm (3), irradiates a cuvette with a sample of blood (4). Signal passing through a sample is collected by a lens (5) and gets into polychromator (6), then it is analysed by the CCD-camera (7).

Relative absorption spectral coefficient of the blood sample is determined under the following formula

$$r^{\text{rel}}(\lambda) = I_{\text{zn}}(\lambda) - I_{\text{sn}}(\lambda) \quad (1)$$

where $I_{\text{zn}}(\lambda)$, $I_{\text{sn}}(\lambda)$ - normalised per unit signals propagation in the sample and in the empty cuvette. Bands in the spectrum correspond to known molecular signatures in the blood, thereby providing specific information about cell composition without the need for dyes, labels, or other agents.

RESULTS AND DISCUSSIONS

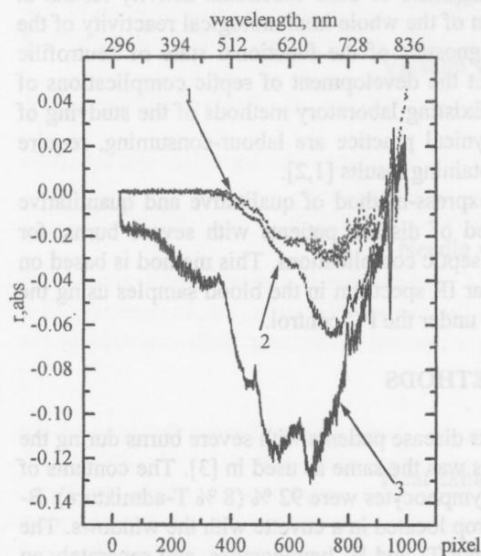


Fig2. Absorption spectral coefficient of the blood sample with serum (1), with serum and albumin (2) and with T-lymphocytes(3).

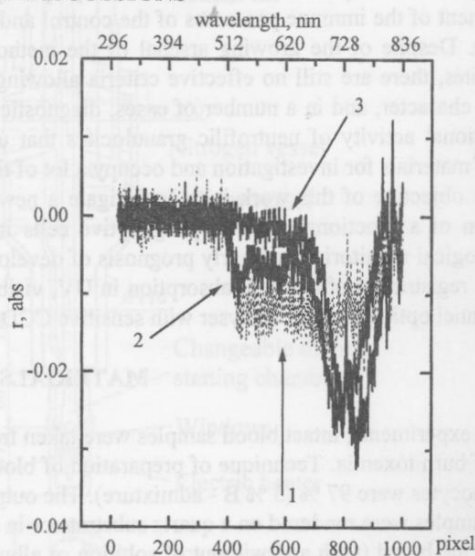


Fig 3. Absorption spectral coefficient of the blood sample with serum (1), with serum and albumin (2) and with solution of albumin (3).

New optical method of diagnostics of the endogenous intoxication of phagocytic cells...

The blood samples contain 4-6 million of T- lymphocytes and 2-4 million of B- lymphocytes. It is found, that the greatest absorption in blood samples containing that phagocytic cells is observed in the spectral region of 560-650 nm. Weak bands of absorption in areas of 430 nm and 525 nm were observed.

With the aim of identification of observable bands of absorption, a series of experiments was conducted, in which the absorption spectra of the samples with T- or B- lymphocytes were compared with the absorption spectra of the samples containing only serum (with or without albumin). The typical spectrum of absorption is shown on Fig. 2. One can see, that the absorption spectrum of T- lymphocytes differs from the absorption spectrum of the samples with serum (with or without albumin). In the region of 400-570 nm, where the main part of absorption for the samples with T- lymphocytes is observed, the absorption for the samples with serum (with or without albumin) is insignificant. At the same time the absorption for the samples with T- lymphocytes in the region of 630-840 nm can be attributed to serum (with or without albumin). To define, what responsible for the absorption in the region of 630-840 nm, a series of experiments was conducted, in which the absorption spectra of the samples with serum (without T-or B- lymphocytes) were compared with the absorption spectra of the samples with a solution of albumin (Fig 3.). One can see, that the main contribution to absorption in the region of 670-770 nm is caused by albumin.

CONCLUSION

In this investigation we found that proposed method of optical diagnostics with a help of the PC-operated CCD-based multichannel optical spectra analyser makes it possible to determine with sufficient sensitivity a spectral region of analytical interest where the light absorption is caused by presence of T- and B- lymphocytes in the blood sample. The dynamics of changes correlate with a tendency of endogenous intoxication of neutrophil granulocytes due to the storage of toxins in the blood plasma after the burn injury. Taking into account the obtained data, this method can be recommended as a diagnostic tool for clinical approval with the aim of rapid detection of the functional state of neutrophil granulocytes and early prognosis of the development of burn-mediated septic complications.

REFERENCES

1. Frimel G. Immunological methods. - Moscow: Medicina. 1987. 356 p.
2. Men'shikov B.E. Methods of laboratory diagnostics in clinic. - Moscow: Medicina. 1987. 368 p.
3. Sakharov D., Osadchaya O., Lednytsky G., Vinnitsky V. Biogenic electromagnetic fields participate in the optimisation of the neutrophil granulocytes' functions of patients suffering of severe burns // Physics of Life. 1998. V.5. P.80-82.
4. Kernazhitsky L.A., Naumov V.V., Osadchaya O.I., Puchkovskaya G.A. Working out of new optical method of early diagnostics and investigation of development of the infective complications of the patients with rheumatoid arthritis and heavy burn. - In: Spectroscopy of Biological Molecules: Modern Trends. -Universidad Nacional de Educacion a Distancia, Madrid. 1997. P.75-76

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Я. Ю. Черняк, О. Т. Николов

Харьковский государственный университет, г. Харьков, 310077, пл. Свободы, 4.

Поступила в редакцию 10 февраля 1999 года.

В работе исследовалась жизнеспособность штамма пивных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* после воздействия γ -излучения. Критерием жизнеспособности штамма являлось изменение во времени оптической плотности субстрата с дрожжами. Исследования показали, что γ -облучение в дозах 100 и 200 Р повышает скорость размножения дрожжей на 40 %. γ -Облучение в дозах 500+7500 Р рост *Saccharomyces cerevisiae* угнетает.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: γ -излучение, штамм, пивные дрожжи, оптическая плотность, жизнеспособность.

Известно, что воздействие ионизирующего излучения в дозах свыше 150 кР на винные дрожжи приводит к выведению новых штаммов, значительно отличающихся от исходных повышенной бродильной активностью [1–4]. Аналогичная информация о пивных дрожжах в литературе отсутствует, действие на них малых доз ионизирующего излучения не изучено. В связи с этим представляло интерес исследовать жизнеспособность пивных дрожжей после их γ -облучения в диапазоне доз 100+7500 Р.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Опыты проводили на штамме *Saccharomyces cerevisiae*, паса 8АМ, генерация 5. В качестве питательного субстрата выступало солодовое охмеленное пивное сусло. Образцы облучались на γ -установке "Исследователь" (источник излучения ^{60}Co).

В пробирки ёмкостью 60 мл с 40 мл сусла в равных концентрациях вносились клетки исследуемой культуры (объёмная доля дрожжевой биомассы 0,05 %).

Основным критерием жизнеспособности штамма являлось изменение во времени оптической плотности сусла с дрожжами.

Дрожжи подвергали γ -облучению в дозах 100; 200; 500; 2500; 7500 Р. Затем их помещали в пробирки с суслом и контролировали идентичность начальных значений оптической плотности содержимого всех пробирок при помощи фотоэлектронного калориметра КФК–2–УХЛ 4.2 (КФК). Далее дрожжи инкубировали в термостате при температуре +30 °С в течении 96 ч. Каждые 2 ч снимались показания КФК.

Используя калибровочную кривую, значения оптической плотности переводились в значения концентрации клеток дрожжей в сусле. Контрольным образцом служил исходный необлучённый штамм пивных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Полученные результаты обрабатывали статистически с применением критерия Стьюдента [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении влияния ионизирующего излучения в дозах 100, 200 Р на жизнеспособность пивных дрожжей через 40 ч наблюдалось существенное (до $50,0 \pm 10,3\%$ по сравнению с контрольным образцом) ускорение роста биомассы. После облучения дрожжей в области доз 500+7500 Р уже через 40 ч прекращалось увеличение концентрации клеток *Saccharomyces cerevisiae*. Зависимость концентрации клеток *Saccharomyces cerevisiae* от дозы γ -облучения приведена на рис. 1.

Полученные данные свидетельствуют о том, что для исследуемого штамма пивных дрожжей, дозы γ -облучения 500 Р и более, приводят к возникновению большого числа нарушений в структуре генома и, следовательно, ошибкам в передаче информации, влекущим за собой торможение процессов размножения и гибель дрожжевых клеток.

Установлен критический предел дозы воздействия (200 Р), ниже которого вероятность повреждения генома данного штамма становится практически бесконечно малой, в то время, как регулирующие механизмы клеток дрожжей, в силу их значительно большей радиочувствительности, согласно [6], отвечают реакцией стимуляции ряда процессов, повышающих жизнеспособность дрожжевых клеток данного штамма.

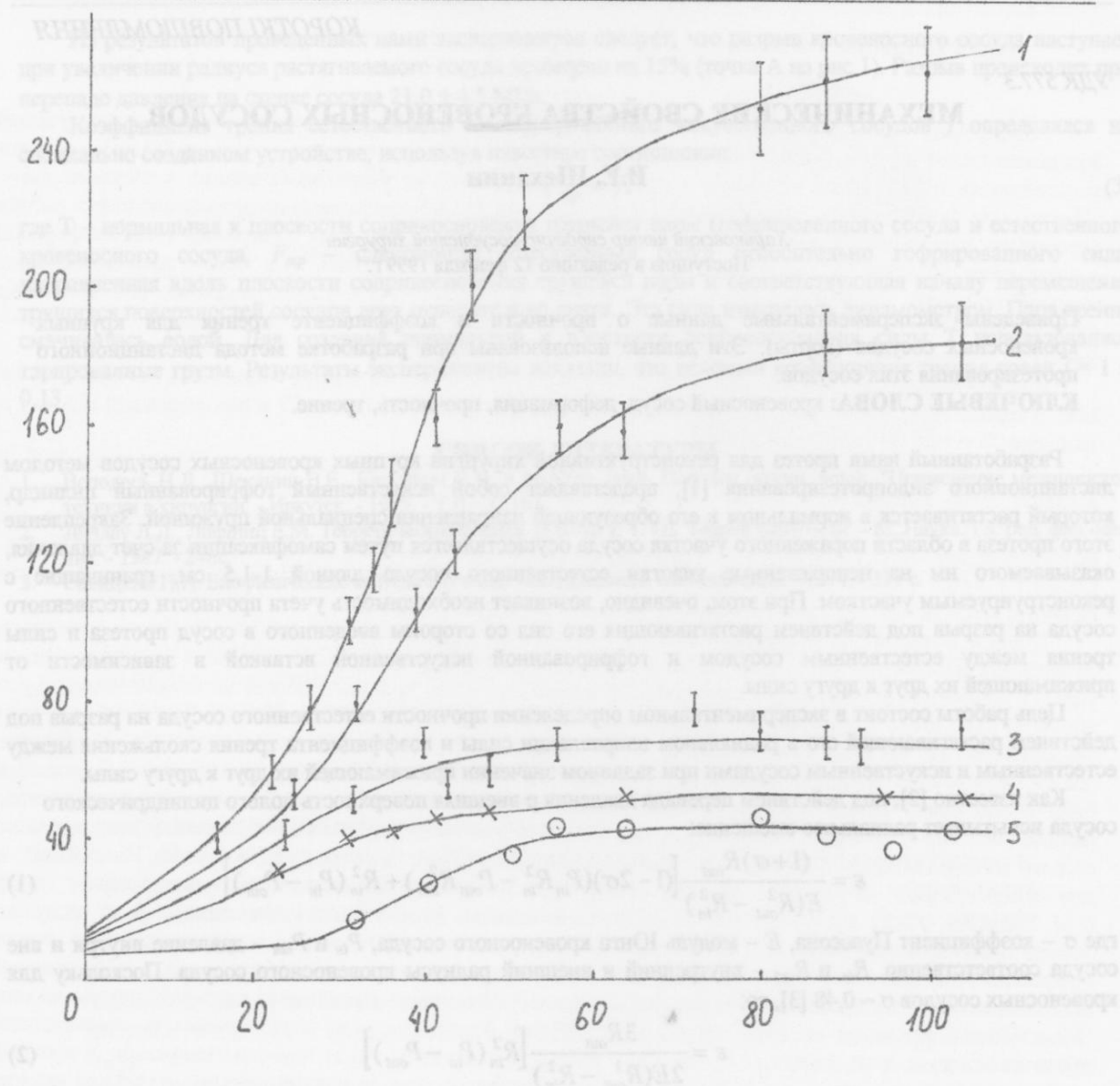


Рис. 1. Зависимость концентрации клеток *Saccharomyces cerevisiae* от дозы γ -облучения.

По оси абсцисс — время после γ -облучения, ч;

по оси ординат — концентрация клеток *Saccharomyces cerevisiae*, 10^3 клеток/мл.

1 — 200 Р; 2 — необлученный контрольный образец; 3 — 500 Р; 4 — 2500 Р; 5 — 7500 Р.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тилипова Ш., Гулямова Н., Баласания И. А. Влияние γ -лучей ^{60}Co на бродную активность *Saccharomyces vini*. АН Узбекской ССР, // Узбекский биологический журнал, 1978, № 1. С. 14–16.
2. Бургвиц Г.К., Бачинская А.А. О действии emanации радия на виноградные дрожжи. // Микробиология, 1936, Т. V, Вып. 2. С. 240–247.
3. Алиханян С.И., Налбандян Г.М., Авакян Б.П. Селекция винных дрожжей с применением мутагенов. // "Генетика", 1971, Т. 7, № 10, 51, С. 99–106.
4. Квасников Е.И., Щелокова И.Ф. Дрожжи. Биология. Пути использования. К.: "Наукова думка", 1991.
5. Бейли Н. Статистические методы в биологии. М.: Изд-во иностр. лит. 1962, 260 с.
6. Кузин А. М. Стимулирующее действие ионизирующего излучения на биологические процессы. Атомиздат, 1977.

УДК 577.3

МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ

В.Е. Шеханин

Харьковский центр сердечно-сосудистой хирургии

Поступила в редакцию 12 февраля 1999 г.

Приведены экспериментальные данные о прочности и коэффициенте трения для крупных кровеносных сосудов (аорты). Эти данные использованы при разработке метода дистанционного протезирования этих сосудов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кровеносный сосуд, деформация, прочность, трение.

Разработанный нами протез для реконструктивной хирургии крупных кровеносных сосудов методом дистанционного эндопротезирования [1], представляет собой искусственный гофрированный цилиндр, который растягивается в нормальном к его образующей направлении специальной пружиной. Закрепление этого протеза в области пораженного участка сосуда осуществляется путем самофиксации за счет давления, оказываемого им на неповрежденные участки естественного сосуда длиной 1-1,5 см, граничащие с реконструируемым участком. При этом, очевидно, возникает необходимость учета прочности естественного сосуда на разрыв под действием растягивающих его сил со стороны введенного в сосуд протеза и силы трения между естественным сосудом и гофрированной искусственной вставкой в зависимости от прижимающей их друг к другу силы.

Цель работы состоит в экспериментальном определении прочности естественного сосуда на разрыв под действием растягивающей его в радиальном направлении силы и коэффициента трения скольжения между естественным и искусственным сосудами при заданном значении прижимающей их друг к другу силы.

Как известно [2], под действием перепада давления p внешняя поверхность полого цилиндрического сосуда испытывает радиальное смещение:

$$\varepsilon = \frac{(1+\sigma)R_{out}}{E(R_{out}^2 - R_{in}^2)} \left[(1-2\sigma)(P_{in}R_{in}^2 - P_{out}R_{out}^2) + R_{in}^2(P_{in} - P_{out}) \right] \quad (1)$$

где σ – коэффициент Пуассона, E – модуль Юнга кровеносного сосуда, P_{in} и P_{out} – давление внутри и вне сосуда соответственно, R_{in} и R_{out} – внутренний и внешний радиусы кровеносного сосуда. Поскольку для кровеносных сосудов $\sigma \sim 0,48$ [3], то:

$$\varepsilon = \frac{3R_{out}}{2E(R_{out}^2 - R_{in}^2)} \left[R_{in}^2(P_{in} - P_{out}) \right] \quad (2)$$

Нагнетая в отрезке естественного кровеносного сосуда давление, превышающее атмосферное на величину P , и определяя увеличение внешнего радиуса сосуда при этом, можно получить его диаграмму растяжения (рис.1).

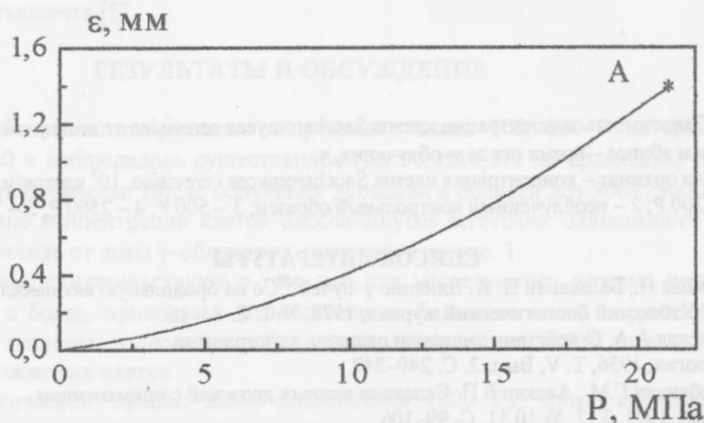


Рис. 1. Диаграмма радиального растяжения аорты с исходным диаметром 10 мм и толщиной 4 мм

Механические свойства кровеносных сосудов

Из результатов проведенных нами экспериментов следует, что разрыв кровеносного сосуда наступает при увеличении радиуса растягиваемого сосуда примерно на 15% (точка А на рис. 1). Разрыв происходит при перепаде давления на стенке сосуда $21,0 \pm 4,5$ МПа.

Коэффициент трения естественного и гофрированного искусственного сосудов f определялся на специально созданном устройстве, используя известное соотношение:

$$F_{\text{тр}} = fT \quad (3)$$

где T – нормальная к плоскости соприкосновения трущейся пары (гофрированного сосуда и естественного кровеносного сосуда), $F_{\text{тр}}$ – сдвигающая естественный сосуд относительно гофрированного сила, направленная вдоль плоскости соприкосновения трущейся пары и соответствующая началу перемещения трущихся поверхностей сосудов друг относительно друга. Эта сила измерялась динамометром. Пара трения смачивалась водой. Для создания нормальной к плоскости соприкосновения силы T использовались тарированные грузы. Результаты экспериментов показали, что искомый коэффициент трения равен $f = 1 \pm 0,13$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Володось Н.Л., Шеханин В.Е., Карпович И.Н. и др. // Тез. докл. Всесоюз. научн. конф. "Применение медицинской техники в хирургии. - Иркутск. - 1985. - Т.П. - С.163.
2. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. В 10-ти т. Т. VII. Теория упругости. - М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит. - 1987. - 248с.
3. Савицкий Н.И. Биофизические методы изучения гемодинамики. М.: Медицина. - 1974. - 311 с.

КОНФЕРЕНЦІЯ З ФІЗИКИ БІОЛОГІЧНИХ СИСТЕМ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ*(PBS-98 – Київ, 6-10 вересня 1998 р.)*

Конференція з фізики біологічних систем (PBS-98) була організована для сприяння розвитку сучасної фундаментальної науки в Україні та залучення фізиків в таку важливу галузь науки, як біологія, а також налагодження міжнародних контактів і розвитку співробітництва українських вчених з вченими світу. Обмеженість фінансування науки в Україні в останні роки не дає можливості широко представити роботи українських вчених на відомих конференціях в Західній Європі і США. Тому проведення такої конференції є актуальним. Конференція з цієї проблеми ще не проводилась в Україні, була новою для європейської наукової спільноти і викликала безсмісний інтерес. На участь в PBS-98 було одержано 120 заявок від наукових співробітників 8 країн світу, а прийняли участь в конференції вчені 7 країн (США-3, Німеччина-3, Японія -2, Туреччина-1, Угорщина-2, Голандія-1, Росія- 12, Україна-95), всього 122 учасника.

Конференцію PBS-98 було проведено 6-10 вересня 1998 року в будинку відпочинку "Пуша Водиця" МЗС України. На конференції було заслухано 11 запрошених лекцій (40 хв.), 29 усних доповідей (25 хв.) та зроблено 74 стендових повідомлення.

На першому пленарному засіданні учасників конференції привітав голова Оргкомітету PBS-98 академік НАН України М.С. Бродін. Професор В.Я. Малєєв (Харків) розповів про історичні основи та сучасні тенденції розвитку біофізики в Україні. На цьому ж засіданні було заслухано лекцію про особливості навчання у галузі медичної біофізики в Вісконсін-Медісон університеті (prof. P.M. DeLuca, США) і у вузах України (проф. О.В. Чалий, Київ), та лекцію доктора Р.Н. Храмова (Пушино, Росія) про кальцієві хвилі та систему китайських меридіанів.

Основні питання, які були обговорені на конференції, стосуються використання фізичних уявлень та методів для дослідження біологічних систем. У науковій програмі конференції ці питання були представлені у шести напрямках, по кожному з яких було проведене засідання, де були зроблені запрошені лекції та усні доповіді. Крім цього були проведені дві сесії для демонстрації стендових повідомлень. Для того, щоб мати уявлення про те, які проблеми розглядалися на конференції, обмежимося тільки тематикою запрошених лекцій по основних наукових напрямках. По напрямку "Теоретичні аспекти функціонування біомолекул" були представлені лекції про метод ЕПР з часовим розв'язанням для дослідження фото-індукованих радикальних пар (A.J. Hoff, Нідерланди), про вплив на ультрашвидку реакційну динаміку індукованих світлом конформаційних змін в білках в бактеріальних реакційних центрах (A.R. Holzwarth, Німеччина) та про саморегуляцію як можливу фізичну основу функціонування біомакромолекулярних систем (проф. В.М. Харкянен, Київ). По напрямку "Концептуальні аспекти фізики біологічних систем" було заслухано лекцію професора В.Л. Зими про білкові мотори, їх структурну організацію і генерацію сили, та лекцію професора А.П. Демченко про утримання структури білка молекулярними шаперонами з обговоренням проблеми контролю стохастичного процесу. По напрямку "Внутрі- та міжклітинні взаємодії" лекцію на тему "Молекулярна фізіологія калієвих каналів та проблема фізико-хімічного моделювання їх властивостей" прочитав академік НАН України І.С. Магура. Крім вище зазначених трьох наукових напрямків, у програмі конференції було розглянуто ще доповіді по таких напрямках: вода та макромолекули, нуклеїнові кислоти та їх взаємодія з зовнішніми чинниками, прикладна біофізика.

Аналіз тематики конференції показує, що у нас час найбільша увага у галузі фізики біологічних систем приділяється теоретичним та експериментальним дослідженням на молекулярному рівні (білкові системи, нуклеїнові кислоти). Важливими факторами при функціонуванні цих систем є вплив зовнішнього оточення, нерівноважні фазові перетворення тощо. Суттєва увага зараз приділяється моделюванню процесів у іонних каналах біомембран, у клітинах та їх експериментальному вивченню.

Теоретичні дослідження у галузі фізики біологічних систем базуються на методах нерівноважної термодинаміки, статистичної та стохастичної фізики, молекулярної та броуновської динаміки, теорії нерівноважних фазових переходів, синергетики, тощо. Розвиток сучасних фізичних методів досліджень - FTIR, EPR, NMR- спектроскопії дозволяє на новому рівні вивчати ці явища. Значний інтерес викликали теоретичні розробки нових моделей функціонування біомолекулярних систем. Велику дискусію викликали також доповіді про властивості води та водних розчинів біомолекул.

У загальній дискусії на заключному засіданні була дана в цілому висока оцінка організації конференції та її науковому рівню. В той же час були відзначені недоліки щодо підготовки наукової програми та вибору робочої мови конференції. Статус міжнародної конференції потребує завчасної підготовки наукової програми та запрошення відомих вчених в галузі біофізики, а робочою мовою повинна стати англійська мова. Прийнято рішення опублікувати матеріали конференції PBS-98, що відбулася, за рекомендацією Оргкомітету і за бажанням авторів у вигляді наукових статей в журналах "Біофізичний вісник" (Харків) та "Биофизика" (Росія). Висловлено бажання наступну конференцію з фізики біологічних систем провести через 2-3 роки у місті Києві.

**Александр
Александрович
Сериков**



18 ноября ушел из жизни прекрасный физик и замечательный человек Александр Александрович Сериков.

А.А. Сериков родился 7 мая 1942 года в пос. Донгус Чкаловской области. Его детство и юность прошли в г. Харькове, где он окончил школу, а затем 4 курса Харьковского авиационного института и параллельно 4 курса университета. Но тяга к физике оказалась настолько сильной, что в 1963 году он оставляет ХАИ и переводится на 2-ой курс лучшего физического вуза страны – Московского физико-технического института. В 1967 году А.А. Сериков становится аспирантом академика АН УССР А.С. Давыдова в Институте теоретической физики (г. Киев), в котором он проработал до последних дней своей жизни и с которым связаны все его творческие достижения.

Уже в первых научных работах, посвященных вибронным спектрам молекулярных кристаллов, ярко проявились особый, свойственный только А.А. Серикову, оригинальный стиль мышления и редкое умение взглянуть на любую проблему с самых общих позиций. А.А. Серикову удалось сформулировать новый подход к исследованию вибронных состояний, построенное им совместно с А.С. Давыдовым операторное представление для вибронных состояний получило название представления Давыдова-Серикова. Соответствующие результаты составили предмет его кандидатской диссертации, которую он защитил в 1971 году.

После окончания аспирантуры А.А. Сериков заинтересовался общими вопросами прохождения света через диэлектрические среды. И здесь он сумел найти оригинальный способ исследования взаимодействия электромагнитных волн с кристаллом без привлечения теории возмущений, что позволило включить в рассмотрение процессы переизлучения, важные в случае сред с большой пространственной дисперсией и силой осциллятора. В итоге он впервые объяснил экспериментальные данные по неклассическому поглощению света молекулярными кристаллами и зависимости спектров поглощения от толщины кристаллического слоя. Эти и некоторые другие работы вошли в его докторскую диссертацию, которую он защитил в 1981 году.

Существенной частью оптико-экситонных исследований А.А. Серикова стали работы по донор-акцепторному переносу энергии в конденсированных средах, а также исследования распространения экситонного возбуждения в кристалле с колебаниями. И те и другие стали основой разнообразного и порой неожиданного использования понятия об экситонах как коллективных возбуждениях в биосистемах.

Именно биофизические и биохимические задачи составили основной предмет научных интересов А.А. Серикова в последующие 10-15 лет. Большой цикл работ, был выполнен им вместе с рядом соавторов для выяснения первичных механизмов действия слабого электромагнитного излучения на биологические объекты. В этих работах было убедительно показано, что именно коллективное поведение молекул в составе биологического объекта сильно меняется под действием слабого электромагнитного излучения.

Происходило постепенное смещение научных интересов Александра Александровича в сторону изучения биологических объектов и проблем живого в целом. Работа в НИЦ КМ МОЗ Украины "Видгук" была связана с проблемами морфогенеза живых организмов. Им была выдвинута новая концепция морфогенеза.

Последние три года жизни А.А. Серикова были тесно связаны с проблемой рака. На этом этапе ярко проявились человеческие достоинства Александра Александровича и его высокий научный потенциал. Универсальность естественно-научного мышления позволила А.А. Серикову в это короткое время не только "войти" в одну из сложнейших проблем живого, но и предложить возможный механизм возникновения опухолей, в основе которого лежит открытое им явление автоселекции в гетерогенной популяции нормальных дифференцирующихся клеток.

Тяжелая болезнь А.А. Серикова не сломила его человеческую сущность — оригинальное чувство юмора, нестандартность подхода ко многим жизненным ситуациям, любовь и стремление к научным дискуссиям. Живой ум боролся с недугом, строились большие научные планы, которым, к сожалению, не суждено было реализоваться при жизни Александра Александровича. Но мы уверены, что будут жить и развиваться научные идеи А.А. Серикова, также как будет жить светлый образ этого человека в сердцах всех тех, кто его знал любил и уважал.

Ю.П. Благой, Л.С. Брижик, С.Н. Волков, А.К. Видыбида, Ю.Б. Гайдидей, С.В. Гаташ, А.А. Еремко, Н.Н. Косицкий, В.М. Локтев, В.Я. Малеев, В.И. Печеная, Г.И. Соляник, М.Е. Толсторуков, В.Н. Харьянен, Л.Н. Христофоров.

ABSTRACTS

THERMODYNAMICAL ANALYSIS BY ^1H NMR OF THE COMPLEXATION OF ETHIDIUM BROMIDE TO A DNA OCTAMER, 5'-d(GpApCpApTpGpTpC), IN AQUEOUS SOLUTION**V.L. Pahornov, D. B. Davies* and A. N. Veselkov***Department of Physics, Sevastopol State Technical University, Crimea, Ukraine***Department of Chemistry, Birkbeck College, University of London, WCIH OPP, United Kingdom*

The self-association of the self-complementary deoxyoctanucleotide, 5'-d(GpApCpApTpGpTpC), and its complexation with the phenanthridinium drug, ethidium bromide (EB), has been studied by 1D and 2D 500/600 MHz NMR spectroscopy. 2D homonuclear correlation PMR spectroscopy (TOCSY and NOESY) was used for complete assignment of the non-exchangeable protons of the molecules and for qualitative determination of the preferred binding site(s) of the ligand with the oligonucleotide chain. An NMR analysis has been developed for determining the thermodynamical parameters of self-association of the DNA octamer and its multicomponent equilibrium of complex formation with EB in solution. Quantitative determination of the equilibrium constants and thermodynamic parameters (free energy, enthalpy and entropy) of duplex formation of the octamer and its complexation with EB is based on investigation of the dependence of proton chemical shifts of the molecules on temperature and on concentration. The experimental results were interpreted in terms of complexes containing different numbers of drug molecules in the octamer duplex (1:2, 2:2, 3:2 and 4:2 complexes). It is also found that (i) the relative amount of each molecular complex depends on the ratio of the initial concentrations of the octamer and drug and on the temperature of solution and (ii) successive binding of drug molecules to the octamer duplex is anti-cooperative.

KEY WORDS: deoxyoctanucleotide, ethidium bromide, intercalation, thermodynamic parameters, NMR spectroscopy

STUDY OF HYDRATION AND STRUCTURE TRANSITIONS OF TRANSFER RNA**T.V. Bol'bukh, M.A. Semenov, V.A. Kashpur, V.Ya. Maleev***Institute of Radiophysics and Electronics Nat. Sci. of Ukraine, 12 Ak. Proskury st, Kharkov, 310085, Ukraine**e-mail: maleev@ire.kharkov.ua.*

Investigations of the tRNA hydration in wetted films and solutions have been performed by the methods of IR-spectroscopy, EHF-dielectrometry, and piezogravimetry. It was found that the total hydration of tRNA is equal to $\sim 14 (\pm 1)$ moles of water per average mole of nucleotide. This amount of water is necessary to form both the secondary structure RNA stems and the tertiary RNA structure.

KEY WORDS: nucleic acids, hydration, structure of tRNA, IR-spectroscopy, piezogravimetry, EHF dielectrometry

DNA STRUCTURAL CHANGES DURING INTERACTION WITH METAL IONS ON IR- SPECTROSCOPY DATA**S.V. Kornilova***B.I.Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, 47 Lenin Ave., Kharkov 310164, Ukraine*

The metal (Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+}) ion effect on the DNA structure in films is studied at different relative humidities (5-98%) by the IR-spectroscopy method. The results obtained evidence the interaction of the ions with DNA phosphate groups as well as with nucleic bases. The formation of the secondary structure of DNA complexed with metal ions is shown to take place at the greater number of water molecules bound to the polymer than in the case of DNA without ions. The interaction of DNA with metal ions prevents its transition into A-form and induces essential changes in the hydrate water of the complexes. The models for the ion interaction with DNA macromolecules and its components are discussed.

KEY WORDS: DNA structure, metal ions, vibration spectroscopy

CALORIMETRIC STUDY OF GLASS TRANSITION IN DENATURED DNA**G.L.Tseretely, O.L.Vaveluk and T.V.Belopolskaya***Institute of Physics, St.-Petersburg State University, Ul'yanovskaya st., 1, St.-Petersburg 198904, Russia**e-mail: vavol@geo.phys.spbu.ru*

Using the method of differential scanning calorimetry the anomaly of thermal properties of humid DNA was established. It was

found that the temperature dependence of heat capacity of DNA samples containing bound water displays a heat capacity jump. The temperature of this jump strongly depends on the water content. The obtained results were attributed to one of the most important processes in amorphous polymers and in a number of denatured proteins - the process of vitrification. It has been proved that the observed jump of heat capacity reflects a glass transition in denatured DNA with the water playing a role of plasticizer. It is shown that the interval of water content in which denatured DNA can exist in the glassy state is wider and the relative magnitude of the heat jump in DNA is higher than in proteins. It can be assumed that the vitrification process influences the thermal properties of DNA more strongly than in proteins.

KEY WORDS: calorimetry, calf thymus DNA, heat capacity, glass transition, humidity.

QUANTUM CHEMICAL STUDY OF DECAMETHOXINUM AND RELATED DICATIONS

M.V. Kosevich, V.A. Pashinskaya, S.G. Stepanian, V.S. Shelkovsky, V.V. Orlov, Yu. P. Blagoy

B.I. Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, 47 Lenin Ave., Kharkov 310164, Ukraine; e-mail: mvkosevich@ilt.kharkov.ua

The structural and electronic parameters of the dication of antimicrobial drug decamethoxinum and a set of model ammonium dications with various size of alkyl substituents at quaternary nitrogens were determined by means of AMI quantum mechanical calculations. It is shown that the most favourable conformation of the decamethoxinum dication in the absence of water solvent is an extended one with side substituents in the *transposition* with respect to the central chain and intramolecular solvation of ammonium groups by carboxyl oxygens. The positions of two centers of charge distribution in the decamethoxinum dication are close to the location of quaternary nitrogens while the analysis of the set of model dications revealed a strong dependence of the positions of such centers on type and size of the alkyl substituents. Possible correlations of the molecular parameters and the biological activity of ammonium salts are discussed.

KEY WORDS: diquaternary ammonium antimicrobial agents, decamethoxinum, quantum chemical calculations

INVESTIGATION OF THE ELECTRON - IMPACT EXCITATION AND IONIZATION OF NUCLEIC ACID BASE MOLECULES

M.I. Sukhoviya, I.I. Shafranyosh, L.L. Shimon

Uzhgorod State University, 46 Podgornaja St., Uzhgorod 294000, Ukraine

Electron impact excitation, ionization and dissociation of gas - phase thymine molecules were studied in the energy range of 0 to 300 eV. The luminescence spectra of thymine and its dissociative excitation products were obtained within the region of 200 to 600 nm. Excitation and ionization functions for molecules were measured. Possible physical modelling of the intracellular beta-irradiation nucleic acids are discussed.

KEY WORDS: Nucleic acid bases, slow electrons, excitation, ionization, dissociation.

INFLUENCE OF FORMATION OF THE HYDRATATION SHELL ON THERMAL PROPERTIES OF GLOBULAR PROTEINS

T.V. Belopolskaya, G. I. Tsereteli and N. A. Grunina

Research Institute of Physics, St.-Petersburg State University, St.-Petersburg 198904, Russia

By means of differential scanning calorimetry the absolute values of heat capacity for system (globular protein-water) were determined in a wide range of temperatures and concentrations both for native and denatured state of so called small globular proteins: myoglobin, lysozyme and ribonuclease. It has been found that for all the proteins studied the temperature dependence of the heat capacity of the samples containing only the bound water demonstrates a pronounced jump which can be attributed to the vitrification process. The dependence of the jump temperature on the water content in the system is obtained. The partial capacity of protein component has been calculated for native and denatured states at water concentrations ranging from 0 to 90%, i.e. From completely dry samples up to the samples with totally formed hydration shell. It is shown that for all proteins the dependence of the total heat capacity of the protein-water system on the water content, as well as that for the proper heat capacity of the protein has a S-like shape which is most probably caused by the transition of the protein from the vitreous to the rubber-like state.

KEY WORDS: scanning calorimetry, globular proteins, heat capacity, vitrification, hydration, humidity.

THEORETICAL STUDY OF THE INFLUENCE OF THE MEDIUM ON THE ELECTRON STRUCTURE OF THE DERIVATIVES OF QUINOLINE AND COUMARIN

T.V. Sakhno, I.V. Korotkova

Poltava Division of Academy of Sciences of Technological Cybernetics of Ukraine, Skovorody St. 1/3, Poltava, 314003, Ukraine, e-mail: sakhno@ugsep.poltava.ua

The results of quantum-chemical study of mutual relationship between spectral and luminescence properties of flat heteroaromatic molecules and chromophore residue geometry have presented in the paper. The change of the geometry can be induced by the influence of temperature, solution polarity. The possibility of applying the model system elaborated to theoretical study of various solvation processes that determine the spectral and luminescence properties of the molecules has been shown.

KEY WORDS: derivatives of coumarin, quinoline, acridone, xanthone, phenathreedone, electron structure, quantum-chemical calculations, AM1 and PM3 methods

DETECTION OF SMALL BIOMOLECULES USING SURFACE PLASMON RESONANCE METHOD

V.I. Chegel¹, S.A. Piletsky², E. V. Piletskaya²

¹ *Institute of Semiconductor Physics, National Academy of Sciences of Ukraine, 45 pr. Nauki, 252650 Kiev-28, Ukraine.
e-mail: che@ispd.kiev.ua*

² *Institute of Molecular Biology and Genetic, National Academy of Sciences of Ukraine, 150 Zabolotnogo str., Kiev 252143, Ukraine*

The possibility to use Surface Plasmon Resonance for detection of small organic molecules (≈ 200 Da) was demonstrated for two herbicides: atrazine and metribuzin. Herbicide detection is based on the application of chloroplast protein D1 which is natural receptor for photosynthesis-inhibiting herbicides. The sensitivity, achieved in direct and competitive measurement schemes is 100 ng/ml and 0.1 ng/ml, correspondingly. Some peculiarities of SPR method and technology, connected to detection of small organic molecules are described.

KEY WORDS: herbicides, surface plasmon resonance, biosensor, biomolecule, sensitivity.

252-CF PDMS STUDY OF THE PLANT STEROID GLYCOSIDES INTERACTION WITH NUCLEOSIDES

V.V. Pilipenko, S.A. Aksyonov, A.N. Kalinkevich, L.F. Sukhodub

Institute of Applied Physics, National Academy of Science of Ukraine, 244030, Sumy, Petropavlovskaya St., 58, Ukraine

Steroid glycosides (SG) are phytogetic substances. Considerable interest of investigators in the above group of compounds has arisen due to their pronounced biological activity: Some SG have fungicide, antitumor, antibacterial and other activity. In this work 252-Cf Plasma Desorption Mass Spectrometry was used to investigate model mixtures of some SG or genins with Ado, Cyd, Guo, Thd, Urd. From the mass-spectra obtained it is seen that some SG, Bioside neotigogenin and Petunioside D, have ability to form noncovalently bounded associate like [SG+nucleoside] with Urd and, in the case of Bioside neotigogenin, also with Cyd. Another SG or genins did not show this possibility.

KEY WORDS: steroid glycosides, genins, nucleosides, Plasma Desorption Mass Spectrometry, noncovalently bounded associate

STUDY OF 6-THIOGUANINE RARE TAUTOMERS

Yu.V. Rubin

B.I.Verkin Institute for Low Temperature Physics and Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, 47 Lenin Ave., Kharkov 310164, Ukraine

The study of 6-thioguanine rare tautomers (N7H and SH tautomers) has been carried out by experimental (UV absorption and luminescence spectroscopy) and theoretical (CNDO/S) methods. These investigations showed the long-wave shift of absorption and luminescence spectra on 6SG N7H tautomer relatively ones of N9H tautomer. The sequence of N7H tautomer excited states was proposed. The performed investigations showed that absorption spectrum of 6SG SH-tautomer must be shifted to short-wave region relatively 6SG thion forms.

KEY WORDS: UV absorption, quantum chemical calculations, 6-thioguanine, tautomerism

INTERACTION OF HEMOGLOBIN AND CYTOCHROME C WITH MODEL MEMBRANES : CHARACTERIZATION OF ELECTROSTATIC EFFECTS

G.P.Gorbenko

Kharkov State University, Svobody Sq. 4, Kharkov 310077, Ukraine

The interaction of hemoglobin and cytochrome C with negatively charged phospholipid vesicles composed of phosphatidylcholine and diphosphatidylglycerol has been studied. Thermodynamic description of the binding process has been performed in terms of two-dimensional lattice models of large ligand adsorption to surface, being modified to distinguish the electrostatic contribution to the binding energy. The electrostatic and nonelectrostatic components of the association constant have been found to exhibit nonmonotonous dependence on the surface charge of lipid bilayer, with the minimum being observed at ca. 20-40 mol % of diphosphatidylglycerol. The results obtained provide arguments in favour of decreasing the contribution of electrostatic effects to the total binding energy upon the increase of the degree of surface occupancy by the protein.

KEY WORDS: hemoglobin, cytochrome C, liposomes, protein - lipid complexes, adsorption models

MATHEMATICAL MODEL OF DYNAMICS OF PLATELET AGGREGATION. THE DETERMINATION OF DEPENDENCE OF KINETIC PARAMETERS ON THE TEMPERATURE

S.V. Gatash, V.P. Berest, M.A. Vorobeychik

Kharkov State University, Svobody Sq. 4, 310077, Ukraine

The mathematical model describing dynamics of platelet aggregation *in vitro* under conditions of shear forces in flow has been presented. The analytical expression connecting the value of change of the optical density of cell suspension to the sizes of aggregates appearing. The values of kinetic constants of rates of cell association and dissociation to an aggregate for various temperatures and values of activation energy of these processes have been calculated. The mechanism of the dependence of ADP-induced aggregation on temperature has been discussed.

KEY WORDS: platelet, aggregation, mechanisms, shear rates, mathematical model, kinetic constants, light transmittance, temperature, activation energy.

THE TEMPERATURE EFFECT ON HUMAN ERYTHROCYTES PERMEABILITY FOR CRYOPROTECTANTS

S.Kh. Mezhidov, V.A. Moiseyev

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Science of the Ukraine, 23 Pereyaslavskaya str., Kharkov 310015, Ukraine

By means of EPR method of spin probe, the human erythrocyte permeability for nonelectrolytes at different temperatures has been studied. The coefficients of permeability on the base of the equation of irreversible thermodynamics have been determined and activation energy and the permeability time of 50% from the number of extracellular cryoprotectant have been calculated. There at it has been established that at 0°C the permeability coefficient of 1,2-PD, DMSO, ethylene glycol and glycerol for human erythrocytes is equal to $(1,0 \pm 0,1) \times 10^{-5}$, $(1,0 \pm 0,1) \times 10^{-5}$, $(2,8 \pm 0,6) \times 10^{-5}$ and $(0,26 \pm 0,04) \times 10^{-5}$ sm/min correspondingly. During the temperature increase of 10 °C the permeability coefficient increases in 7,4, 1,8 and 1,8 times correspondingly. At 10 °C nonelectrolytes on the value of the permeability coefficient for human erythrocytes form 1,2-PD > ethylene glycol > DMSO > glycerol series, where the sequence is determined by the complex of all their physical and chemical properties and not by their lyotropic, dielectric and other properties.

KEY WORDS: human erythrocytes, electron, paramagnetic resonance spectroscopy, permeability, cryoprotectants.

THE MEDIUM OSMOLARITY EFFECT TO THE MICROVISCOSITY OF ERYTHROCYTE CYTOPLASM

S.Kh. Mezhidov, V.A. Moiseyev

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Science of the Ukraine, 23 Pereyaslavskaya str., Kharkov 310015, Ukraine

The dependence of correlation time of rotary diffusion ($\text{CTRD} = \tau$) of TEMPON spin probe in erythrocyte cytoplasm on the osmolality of extracellular medium and 1,2-propanediol (1,2-PD) concentration was studied by EPR method of spin probe. Thereat it has been revealed that at sodium chloride, potassium chloride, succrose and glucose concentration higher than 0,8 Mol/l, the deviation from linear dependence is observed, that is related to the exit of free water from the main mass erythrocytes. The presence of distinctions in τ TEMPON probe in erythrocyte cytoplasm depending on 1,2-PD concentration at sodium chloride concentrations upon 0,8 Mol/l, stipulated by the dependence of intracellular aqueous solution viscosity on cryoprotectant concentration due to the presence of sufficient quantity of free water in erythrocytes has been established.

KEY WORDS: human erythrocytes, spectroscopy of electron paramagnetic resonance, cytoplasm microviscosity, osmolality of extracellular medium.

HUMAN ERYTHROCYTE FORM CHANGE DURING PRESSING THROUGH CYLINDRIC MICROCAPILLARY

L.I. Gardash, E.A. Gordienko

*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine. National Academy of Sciences of Ukraine,
23 Pereyaslavskaya St., Kharkov 310015, Ukraine*

The analysis of human erythrocyte form change has been carried out during erythrocyte pressing through the cylindric capillary basing on the simple physical and geometrical notions. The equations describing erythrocyte form in the case when cell membrane yielded the deformation without isotopic strain have been obtained.

KEY WORDS: human erythrocyte, deformation, microcapillary, membrane form.

THE TEMPERATURE EFFECT ON THE DIELECTRIC PERMITTIVITY OF PLATELET SUSPENSION IN 3-CM RANGE OF WAVELENGTHS

V.P. Berest, S.V. Gatash, O.T. Nikolov

Kharkov State University, Svobody Sq. 4, 310077, Ukraine

The dependences of dielectric permittivity and frequency of water dielectric relaxation for the temperature range from 4 to 42 °C has been studied in the platelet suspension and human blood plasma by using the method of the very high frequency dielectrometry. The activation enthalpy of water molecules dielectric relaxation has been calculated and dependences of static dielectric permittivity for these systems have been obtained comparatively to the "solvent". It has been shown that the peculiarities of the dependences of the dielectric parameters on the temperature are connected to the conformational transitions of plasma and platelet membrane proteins.

KEY WORDS: platelets, blood plasma, fibrinogen, very high frequency dielectrometry, dielectric permittivity, dielectric relaxation, enthalpy, temperature

STOCHASTIC DYNAMICS OF CELL CLONE DEVELOPMENT. AUTOSELECTION PHENOMENON AND PATHOLOGICAL EVOLUTION.

G.I. Solyanik, A.A. Serikov

*Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, Vasilkovskaya 45, Kiev 252022, Ukraine,
e-mail: farrmm@iepor.kiev.ua; Bogolyubov Institute for Theoretical Physics, Metrologicheskaya, Kiev 252143, Ukraine*

The problem of regulation of the proliferation-differentiation processes is analysed in the framework of the model of unipotent cell clone dynamics, assuming two alternative ways (scenarios) of an every new-born cell development, which in the long run define correspondingly the proliferating or differentiated cell status. The scenario choice is then supposed to be a random event influenced by both the inherent mitotic activity of the cell and the differentiation factors - special messengers synthesized by the differentiated cells. Differentiation factors being accepted by every-new born cell can change the way of cell development. Taking into account the clonal heterogeneity it was shown that such mechanism of the regulation of proliferation-differentiation processes can result in the selection of actively proliferating and insensitive with respect to differentiation factors action cells (that is to say, the cells with cancer phenotype). In the framework of investigation the cells with cancer phenotype (which is heritable within the variability of mother-daughter correlations) appears through the series of the permanent nonmutational changes in the proliferating cells by autoselection mechanism retaining for the division and generation of the progeny only that actively proliferating cells which are less sensitive with respect to the action of the differentiation factors. The progression of normal cell clone towards the appearance and increase of the number of the cells with cancer phenotype can be considered as a possible mechanism of carcinogenesis.

KEY WORDS: cell population heterogeneity, autoselection phenomenon, carcinogenesis.

INVESTIGATION OF SENSITIVE DEPENDENCE UPON INITIAL CONDITIONS AND PARAMETERS OF MODEL BURSTING NEURON

A.O. Komendantov^{1,3}, A.Ch. Gozak², N.L. Kononenko³

¹*Institute of Physics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev;* ²*National Technical University of Ukraine "KPI", Kiev;*

³*Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Bogomoletz Str., 4, 252601 GSP, Kiev-24.*

Ukraine

Sensitive dependence upon initial conditions of realistic mathematical model of neuron has been investigated using construction of $[[Ca^{2+}]_{in} - V]$ phase diagrams. Delicate transformations of phase diagrams under change of relevant parameter of the model

(specific chemosensitive hyperpolarization-activated conductivity g_h , participating in slow wave generation) has been detected using calculation of fractal dimension. The results obtained are important to understanding of complex dynamical behavior of neuron.

KEY WORDS: bursting neuron, deterministic chaos, fractal dimension

ULTRASOUND AND MAGNETIC RESONANCE MEDICAL IMAGES TEXTURE ANALYSIS USING NEURAL NETWORKS

A. V. Mysnik., M. K. Novoselets

*Kyiv Taras Shevchenko University, Radiophysical Faculty, Medical Radiophysics Department, Volodymirska 64, 252017
Kyiv-17, Ukraine; mav@boy.rpd.univ.laev.ua, nmk@boy.rpd.univ.kiev.ua*

Expert analysis of the medical images, received with the help of the ultrasonic scanner or a magnetic resonance tomography is one of major parts of diseases diagnostics. Except the visual analysis in modern expert diagnostic systems methods of automatic processing and analysis of the images are actively used. Neural networks give steadier disease recognition, give an opportunity to analyze fragmentary or noised data. Tree-like self-organizing neural network model is presented, when the network is building during training phase. Results of a neural network algorithm application, constructed and trained on the specified technology, for thyroid gland diseases diagnostics on statistical parameters of its ultrasonic images and head brain tumors recognition on the statistical characteristics of the images received with the help magnetic resonance tomography are presented. The network gives steady determination of the diagnosis at ultrasound inspections with efficiency 80-85 % and more than 70 % at tomographical inspections.

KEY WORDS: texture images characteristics, ultrasound medical images, tomographical medical images, artificial neural networks.

ABOUT SOME FEATURES OF THERMOPHYSICAL PROPERTIES OF WATER AND IT BEHAVIOUR IN ALIVE ORGANISMS

Ye.A. Andreev

Institute of Physics National Academy of Sciences of Ukraine, 46 Prospect Nauki, Kiev 252650, Ukraine

The method of the differential thermal analysis investigates a behaviour of a thermal capacity supersaturated on concentration of water solutions of oxygen. The datas on temperature dependence of thermophysical parameters of water solutions NaCl, H_2O_2 , O_2 , plasma of blood in a range 16-40°C, are indicated. Is shown, that for want of concentration of oxygen in a solution close to it to significance in of arterial blood of the human organism, the temperature features of a behavior are expressed in range 35-41°C. The hypothesis is put forward that a physical frame in a system temperature regulation of alive organisms is the phase transition "water - polymorphic ice".

KEY WORD: nonequilibrium, water, oxygen, peroxide, plasma of blood, differential scanning calorimetry

MONITORING OF XYLEM GRAPES FLOW

A. Gil

Institute of vine and wine "Magarach", 31 Kirovstr., Yalta 334200, Crimea, Ukraine; e-mail: adonis@yalita.yalta.iuf.net

In activity the outcomes of measurement of quantitative size of xylem flow measured by heat balance method of fragment of stem on long-term culture - grape are submitted. The attention to continuity of measurement and absence of injury of researches object, the full conformity of researches to basic positions of fitomonitoring is shown. The outcomes of experiments conducted in artificial and natural conditions are given. The high correlation with an evaluation transpiration of the consumption obtained by a method of weigh is shown. The examples of use of obtained biological outcomes in practical agricultural production are adduced.

KEY WORD: a water regime, fitomonitoring, irrigation, xylem flow, heat balance method

FLUORESCENCE STUDY OF RADIATION EFFECT ON THE STRUCTURE OF ERYTHROCYTE MEMBRANE PROTEINS

V.V. Tovstiak

Kharkov State University, SvobodaSq. 4, Kharkov 310077, Ukraine

The influence of 5 MeV electron beam on the structural state of erythrocyte membrane proteins has been investigated by

monitoring intrinsic protein's fluorescence. It has been found that radiative damage to membrane proteins is mediated by the oxidation of sylvhydryl groups and conformational alterations of the protein molecules.

KEY WORDS: erythrocyte, membrane proteins, fluorescence, radiation

THE SPECIAL MULTI-PURPOSE CRYOSTAT FOR BIOLOGICAL LOW TEMPERATURE STUDIES

L Zharkov, A. Tchmul, V. Safronov, V. Ermakov, G. Dovbeshko

institute of Physics of National Academy of Sciences of Ukraine, 46 Prospect Nauki, Kiev 252022, Ukraine;

e-mail: zharkov@iop.kiev.ua

The special multipurpose cryostat system for biological studies on the basis of the general use cryostat with specialized manipulators was designed. It ensures a wide selection of various biophysical measurements in the broad spectral range (optical measurements in UV, visible, near, mid and far IR ranges within 0,2 - 25 μ , microwave and X-ray studies) within 1,4 - 4,2 - 77 - 80 - 350 K temperature range with high accuracy ($\pm 0,0$ K) and small consumptions of a cryoagent.

KEY WORDS: cryostat system, cryoagent, biophysical measurements, low temperatures.

NEW OPTICAL METHOD OF DIAGNOSTICS OF THE ENDOGENOUS INTOXICATION OF PHAGOCYTIKE CELLS OF BLOOD PLASMA

L.A.Kernazhitsky, V.V. Naumov, G.A. Puchkovskaya, O.I.Osadchaya

Institute of Physics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev 252650, Ukraine

Institute of Hematology and Blood Transfusion, Ministry of Health of Ukraine, Kiev 252650, Ukraine

In this work a new optical express-method of qualitative and quantitative estimation of a functional state of phagocyte cells in the blood of disease patients with severe burns, for immunological monitoring and early prognosis of development of septic complications is proposed. The method is based on real-time registration of the light absorption in the blood samples in UV, visible and near IR spectrum. For measurements, the PC-operated CCD-based optical multichannel spectra analyser is used. Intact blood samples with T- and B-lymphocytes taken from various patients during the period of burn toxemia were investigated. It is found, that the greatest absorption in blood samples containing that phagocyte cells of analytical interest is observed in the spectral region of 560-650 nm. It turns out possible to determine with sufficient sensitivity when and where the light absorption is caused by presence of T- and B-lymphocytes in the blood samples. This correlates with a tendency of endogenous intoxication of neutrophil granulocytes due to the storage of toxins in the blood plasma after the burn injury.

KEY WORDS: blood, lymphocytes, diagnostics, absorption spectroscopy, optical multichannel analyser

EFFECT OF VARIOUS DOSES OF IONIZING RADIATION ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Ya.U. Chernyak, O.T. Nikolov

Kharkov State University, Svobody Sq., 4, Kharkov 310077, Ukraine

This work deals with the investigation of viability of the *Saccharomyces cerevisiae* population after γ -irradiation. The criterion of population viability was the variations of optical density of nutrient medium with yeasts with time. It is shown, that γ -irradiation of yeasts in doses 100 and 200 R increases the rate of their reproduction on 40 %. γ -irradiation in doses 500-7500 R inhibits the rate of reproduction of *Saccharomyces cerevisiae*.

KEY WORDS: γ -irradiation, population, yeasts, optical density, viability.

MECHANICAL PROPERTIES OF BLOOD VESSELS

V.Ye. Shehanin

Kharkov Center for Cardiac and Vessel Surgery

The experimental data related to the firmidity and friction coefficients of big blood vessels (aorta) have been presented. These data have been used for working out the method of distastional prosthetic appliance of these vessels.

KEY WORDS: blood vessel, deformation, firmidity, friction

Підписано до друку 10.03.99. Формат 60х84 $\frac{1}{8}$. Умов. друк.
арк. 8,42. Облік.-вид. арк. 11,7. Тираж 200.

310077, Харків, пл. Свободи, 4, Харківський державний
університет. Видавничий центр ХДУ.

ЗРАЗОК ОФОРМЛЕННЯ СТАТТІ

УДК 576.8.21

НАЗВА СТАТТІ, ЯКА ПОДАЄТЬСЯ ДО РЕДАКЦІЇ

А.Б. Автор, В.Г. Співатор

Назва організації, адреса

Надійшла до редакції 1 липня 1998 г.

У роботі представлені результати експериментальної перевірки адекватності існуючих моделей взаємодії біологічно активних речовин з ...

КЛЮЧОВІ СЛОВА: об'єкт, метод, область дослідження, специфіка даної роботи

У попередніх роботах даного циклу досліджень [1,2] був запропонований алгоритм побудови та експериментальної перевірки моделей взаємодії біологічно активних речовин з
запропоновано загальний механізм взаємодії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В експерименті використовувались хімічно чисті препарати фірми "REANAL" у концентраціях
температура зразка вимірювалась з точністю $\pm 0,1$ °C.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

$$\frac{dX}{dt} = f(X) + \int_{\Omega} g(y) dy \quad (1)$$

ВИСНОВКИ

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Иванов А.Б., Петров В.Г. // Биофизика. 1997. Т.42. С.997-1002
2. Гантмахер Ф.Р. Теория матриц. М. Наука, 1967. 575 с.

чмб-1 ✓

