

during pregnancy // Proc. 2 Baltic conf. on obstetrics and gynecology. — Gdansk, 1989. P. 250–255.

14. *Wijngaert F. P., Rendall M. D., Schuurman H. J.* et al. Heterogeneity of human thymus epithelial cells: ultrastructural study // Cell and Tissue Research. 1984. V. 237. P. 227–237.

Васильев О. Д., Светлов Д. А., Рябинин И. А.

ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИН — НОВЫЙ КОНСЕРВАНТ ДЛЯ АНАТОМИЧЕСКОГО БАЛЬЗАМИРОВАНИЯ

*Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии (заведующий — проф. А. Г. Бойцов)
Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова*

Реагенты, применяемые в анатомическом бальзамировании, можно разделить на два функциональных класса: соединения, обладающие дезинфицирующей активностью и фиксирующие ткани, и соединения, способные создавать в тканях связнодисперсную среду (гель), замещая воду. К первому классу относятся: формальдегид (формалин), фенол, тимол, лизол, этанол, метанол, мышьяковистая кислота, уксусная кислота, соли ртути, хромовая кислота, бихромат калия, отвары и настои некоторых растений. Ко второму классу относятся глицерин и различные полимерные композиции (например, латекс, «силикон», эпоксидные смолы). Кроме того, в процессе изготовления препарата применяются некоторые вспомогательные вещества: средства дегидратации (минеральные соли, ацетон), красители, среды для покрытия препарата прозрачной пленкой или заделки его в прозрачную среду (яичный белок, лаки, агар-агар, желатин, плексиглас) [1, 6].

Популярные ранее методики бальзамирования на основе формалина к настоящему моменту теряют актуальность по ряду причин, в первую очередь из-за токсичности формальдегида. Формальдегид, как универсальный белковый коагулятор, обладает повреждающим действием на респираторное древо на всем его протяжении, что выражается в цитотоксическом эффекте на эпителий дыхательных путей и приводит к снижению объема и качества выработки сурфактанта и ослаблению мукоцилиарного клиренса. Эти эффекты способствуют возникновению инфекционной патологии дыхательной системы и ее хронизации. Формальдегид также проявляет эпидермотоксическое действие. Резиновые перчатки не только не предохраняют от контакта с формальдегидом (он проникает через резину), но и способствуют мацерации кожи. Кроме того, формальдегид при длительном хранении разлагается на метиловый спирт и муравьиную кислоту, значительно превосходящие исходное вещество по токсичности и обладающие нейротропным действием. Формалин не является эффективным дезинфектантом, поскольку ряд микроорганизмов обладает способностью утилизировать как сам формальдегид, так и родственные соединения. Следует также констатировать низкое качество препаратов, полученных методом формализации. Такие препараты обладают неестественным цветом, плотностью тканей и неприятным запахом. Причина кроется в том, что в слабых растворах формалина (2–3 %) красный гемоглобин окисляется до бурого метгемо-

глубина; концентрированные растворы (20–30 %) окисляют гемоглобин до черного катгемоглобина. Для сохранения цвета препаратов или получения «сухих» препаратов с сохранением объема и консистенции органа всегда приходится использовать дополнительные реактивы (в методах Мельникова — Разведенкова, Кайзерлинга, Шора, Лысенкова) [1, 6], что значительно усложняет процесс и увеличивает финансовые затраты.

На смену формализации с успехом приходит полимерное бальзамирование. Данный метод основан на пропитке предварительно обезвоженных и обезжиренных органов растворами мономерных соединений и проведении реакции полимеризации в тканях. В качестве таких полимеров предложены каучук [6] и кремнийорганические соединения, «силикон» (G. Von Hagens, 1977), силоксановая композиция и эпоксидные смолы (С. П. Григорян, Д. А. Старчик, И. В. Гайворонский). Препараты, полученные таким способом, сохраняют цвет, форму и первоначальный объем, имеют эластичную консистенцию и не выделяют токсичных аэрозолей в окружающую среду; способны неограниченно долго храниться без специального ухода. Однако полимерное бальзамирование требует применения патентованных реактивов и специального лабораторного комплекса, включающего вакуумное оборудование и криостат, что делает методику затратной.

Предлагаемый нами метод основан на применении относительно нового биоцидного агента — полигексаметиленгуанидина гидрохлорида (ПГМГ). ПГМГ — **линейный** или разветвленный полимер; температура плавления 100–150 °С; растворим в воде и этаноле. Технический ПГМГ — прозрачно-белые или прозрачно-желтые кристаллы неправильной формы. В 10 %-ных и более концентрированных водных растворах при комнатной температуре происходит студнеобразование [3].

Полигуанидин обладает рядом свойств, благодаря которому его можно рассматривать в качестве перспективного бальзамирующего агента: относится к 4-му классу токсичности по ГОСТ 12.1.007–76 ($LD_{50} = 815$ мг/кг *per os* для мыши, при кожной аппликации 10000 мг/кг [3]), композиты на его основе зарегистрированы как дезинфектанты и кожные антисептики. Препарат обладает широким спектром биоцидной активности [2, 7], является поликатионной смолой и сильным органическим основанием, чем обеспечивает как бактерицидную, так и консервирующую активность. Полигуанидин — единственный в мире водорастворимый полимерный антисептик, образующий на обрабатываемых объектах длительно сохраняющуюся нанопленку. В доступной нам литературе нет упоминаний о применении данного вещества в анатомическом бальзамировании. ПГМГ можно отнести к обоим классам консервантов, поскольку он обладает свойствами фиксатора и способен образовывать гель в тканях препарата.

С поверхности макропрепаратов кафедры нормальной анатомии СПбГМА нами было выделено специфическое микробное сообщество, устойчивое к формальдегиду (см. рис. 1) [8, 9]. Утилизация формальдегида возможна в ксилулозо-5-фосфатном цикле, сериновом цикле, а также посредством формальдегиддегидрогеназы с участием глутатиона [4, 5, 11]. Помимо этого, формальдегид может вступать в реакцию образования ацеталей и полуацеталей с углеводами клеточных стенок и капсул бактерий. Рост представителя обнаруженного нами сообщества — *Providencia alcalifaciens* в жидкой среде наблюдался при концентрации формальдегида 5 %. ПГМГ способен подавлять рост представителей данного флоры [10].

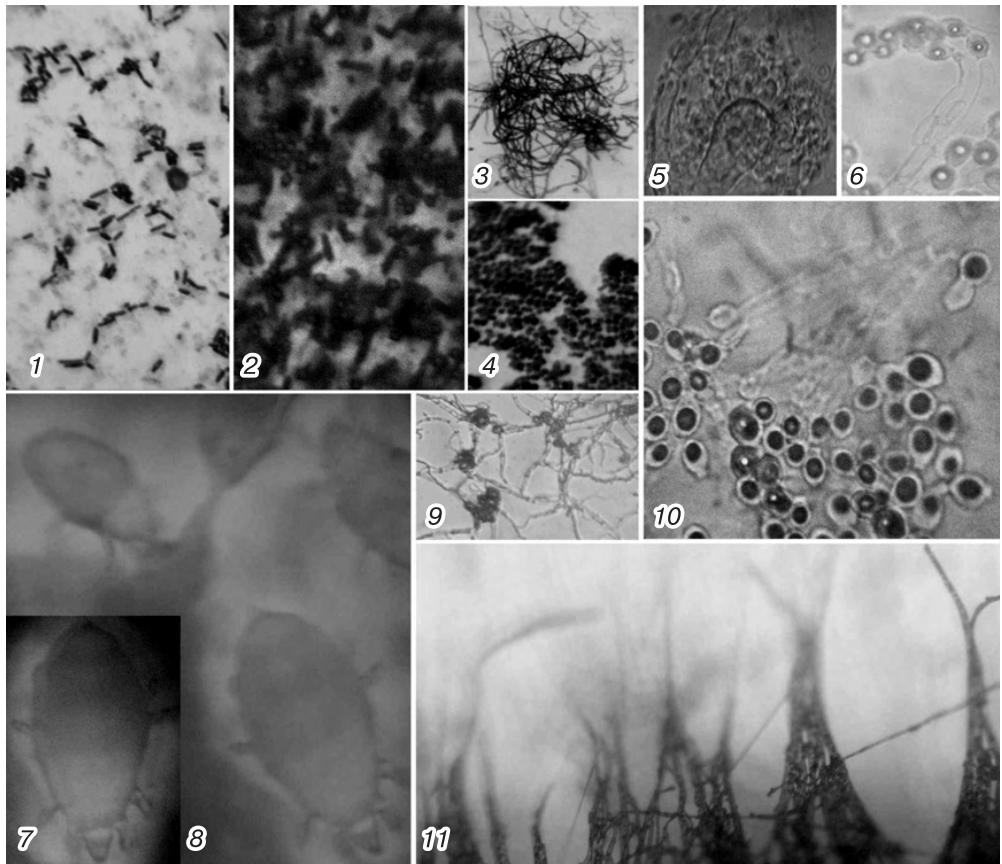


Рис. 1. Сообщество, резистентное к формальдегиду:

- 1 — *Bacillus* sp. (темные) в окружении палочек с капсулоподобным слоем (светлые). Окраска по Граму, X630; 2 — *Bacillus* sp.: видны вегетативные формы и споры. Окраска по Граму, X630; 3 — *Actinomyces* sp. Окраска по Граму, X630; 4 — *Staphylococcus* sp. Окраска по Граму, X630; 5 — *Aspergillus* sp., конидиеносец. X280; 6, 10 — *Scopulariopsis brevicaulis*, конидиеносец. X630; 7, 8 — *Tarsonemus* sp. Клещи-микофаги на колонии *Scopulariopsis*. X56; 9 — *Scopulariopsis brevicaulis*. Прорастающие споры. X56; 11 — *Alternaria* sp. Мицелий на агаровом блоке. X56

В целях бальзамирования нами использовался модифицированный полигуанидин — действующее вещество препарата «Тефлекс А», производства ЗАО «Софт-Протектор», СПб., Российская Федерация (свидетельство о государственной регистрации № 77.99.36.2.У.5236.7.07 от 11.07, сертификат соответствия № РОСС RU.0001.11АЯ12), полученный в виде кристаллического вещества.

Для анатомического бальзамирования получен раствор следующего состава (для объема 500 мл): вода — 2/3 объема, раствор полигуанидина 15 % — 1/3 объема, Na_2HPO_4 — кристаллический — 5,0, NaH_2PO_4 — кристаллический — 12,0. Рецептура фосфатного буфера рассчитывается исходя из pH, которое следует измерять ex tempore. Соотношение гидрофосфатов определяется из расчета

$$pH = pKa + Lg \left(\frac{C(\text{Na}_2\text{HPO}_4)}{C(\text{NaH}_2\text{PO}_4)} \right),$$

где pH — суммарное в конечной системе, pKa — константа диссоциации NaH_2PO_4 , C — концентрация гидрокарбоната соответственно.

Для изготовления препаратов использовались 5 куриных эмбрионов поздних сроков развития. Опыт поставлен в апреле 2007 г. Эмбриональные ткани содержат высокий процент воды и незрелый коллаген, поэтому легко подвергаются микробной деградации. Объекты предварительно промывались дистиллятом, затем заливались консервантом и выдерживались при комнатной температуре в течение 7 сут. в плотно укупоренной таре. Проводилась периодическая проверка изменения органолептических свойств органа и фиксирующей жидкости. По истечении срока бальзамирования два экземпляра эмбрионов мы залили плотной средой следующего состава: вода — 400 мл, агар Difco — 15 г, раствор ПГМГ 1 % — 100 мл (рис. 2). Тела трех других эмбрионов были помещены в 1 % раствор ПГМГ без предварительного инъектирования, хранились в негерметично закрытом сосуде. Через 10 месяцев после бальзамирования при осмотре препаратов существенных изменений внешнего вида эмбрионов не выявлено, раствор испарился, и препараты долгое время оставались «сухими». После осмотра произведено ребальзамирование. Препараты помещены в консервант следующего состава: раствор NaCl 0,9 % — 30 мл, насыщенный раствор ПГМГ, полученный предельным растворением кристаллического вещества в течение суток ($t = 37^\circ\text{C}$) — 70 мл, спирт этиловый 96 % — 10 мл. Предварительно произведены инъекции агара Difco (3 г на 100 мл воды) в несколько спавшиеся глазные яблоки эмбрионов для восполнения объема.



Рис. 2. Куриный эмбрион. Фиксация ПГМГ. Препарат в агаре

Бальзамированные нашим методом (апрель 2007 г.) препараты куриных эмбрионов до настоящего момента (июнь 2008 г.) сохранились в негерметично закрытом сосуде без видимых изменений цвета и плотности тканей, что позволяет рекомендовать наш метод для долгосрочного анатомического бальзамирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Богусловская Т. Б.* Изготовление топографо-анатомических препаратов и методика некоторых анатомических исследований. — М.: Медгиз, 1959.
2. *Васильев О. Д., Ерофеев В. Т., Карташов В. Р.* и др. Противодействие биоповреждениям на этапах строительства, эксплуатации и ремонта в жилых и производственных помещениях. — СПб.: Софт Протектор, 2004.
3. *Гембицкий П. А., Воинцева И. И.* Полимерный биоцидный препарат ПГМГ. — Запорожье: Полиграф, 1998.
4. *Готтшалк Г.* Метаболизм бактерий. — М.: Мир, 1982.
5. *Захаров Е. В., Родионов Ю. В., Ивановский Р. Н.* Устойчивость дыхания метилотрофных бактерий к формиату и цианиду // *Микробиология.* 1980. Т. 49. № 2. С. 215–219.
6. *Привес М. Г.* Методы консервирования анатомических препаратов. — Л.: Медгиз, 1956.
7. *Рябинин И. А.* Сравнительное испытание дезинфектантов и кожных антисептиков // *Человек и его здоровье — 2006: Материалы 79-й конференции студенческого научного общества СПбГМА им. И. И. Мечникова.* — СПб., 2006. С. 321–323.
8. *Рябинин И. А., Фетисова В. В., Лайпанова Л. З., Минаева П. М.* Микрофлора анатомического бальзамирования // *Человек и его здоровье — 2007: Материалы 80-й конференции студенческого научного общества СПбГМА им. И. И. Мечникова.* — СПб., 2007. С. 193.
9. *Рябинин И. А., Фетисова В. В., Лайпанова Л. З., Минаева П. М.* Находка микробного сообщества, резистентного к формальдегиду // *Студенческая наука — 2007: Материалы студенческой научной конференции СПбГПМА 25–26 апреля 2007 года.* — СПб., 2007. С. 189–190.
10. *Фетисова В. В., Рябинин И. А., Лайпанова Л. З., Минаева П. М.* Антимикробное действие технологических вариантов полигексаметиленгуанидина // *Человек и его здоровье — 2007: Материалы 80-й конференции студенческого научного общества СПбГМА им. И. И. Мечникова.* — СПб., 2007. С. 237–238.
11. *Шлегель Г.* Общая микробиология. — М.: Мир, 1987.

Верин В. К.

БИОЛОГИЯ ГЕМОБИЛИАРНОГО БАРЬЕРА

*Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (заведующий — проф. В. К. Верин)
Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова*

Гемобилиарный барьер — полифункциональный гистогематический барьер, который обладает уникальной способностью одновременной эндо- и экзокриновой секреции. Изучению его структурных составляющих посвящены многочисленные морфологические исследования. Механизмы функциональной регуляции и метаболической активности этого барьера у позвоночных еще недостаточно ясны [2, 3, 7].

В филогенезе существенно изменилось строение печени и, в частности, эпителиальной выстилки гемобилиарного барьера. Произошла своеобразная редукция