

Влияние фракций экстрактов плаценты человека на фазовые переходы в клеточных суспензиях эритроцитов и *Saccharomyces cerevisiae*

Ю.С. ГОВОРОВА, А.В. ЗИНЧЕНКО

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Human Placental Extracts' Fractions on Phase Transitions in Cell Suspensions of Erythrocytes and *Saccharomyces cerevisiae*

YU.S. GOVOROVA, A.V. ZINCHENKO

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Водно-солевые экстракты плаценты содержат практически весь спектр биологически активных веществ, поэтому экстракты находят широкое применение в медицине. Вместе с тем, благодаря взаимодействию белков экстрактов с клетками, экстракты могут быть использованы в качестве добавок в многокомпонентных защитных средах при низкотемпературном консервировании. Изучение влияния отдельных фракций, входящих в состав экстрактов, на различные биосистемы в процессе термического воздействия является актуальным, так как низкотемпературное консервирование сопровождается рядом физических процессов, способных вызывать определенные повреждения биосистем. В настоящей работе проведено исследование фазовых переходов во фракциях экстрактов с молекулярной массой белков до 5, 50–70 и 750 кДа, в клеточных суспензиях эритроцитов, *Saccharomyces cerevisiae* и в суспензиях клеток в присутствии фракций экстрактов. Эксперименты выполнены на дифференциальном сканирующем калориметре, разработанном и изготовленном в Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины. Образцы охлаждали погружением в жидкий азот вне калориметрического блока. Скорость охлаждения образцов составляла $3,3(3)^\circ\text{C}/\text{с}$, затем их помещали в предварительно охлажденный до -130°C калориметрический блок. Термограммы регистрировали при нагреве по линейному закону со скоростью $8,3(3)\times 10^{-3}^\circ\text{C}/\text{с}$ в температурном диапазоне $-130\dots 0^\circ\text{C}$.

На термограмме ДСК для фракций с молекулярной массой белков до 5 кДа из свежеполученного экстракта плаценты зарегистрирован ряд термических эффектов: 1 – узкий экзотермический пик при температуре $-85,5^\circ\text{C}$ отображает, вероятнее всего, инверсию молекул, имеющих углерод-углеродные связи (для данного эффекта в литературе употребляется термин “обращение конфигурации”, связанный с процессом изомеризации); 2 – узкий интенсивный эндотермический пик соответствует плавлению эвтектических составов при -21°C , представляющих собой механическую смесь кристаллов NaCl и воды; 3 – плавление всей системы.

Замораживание экстрактов и хранение их при -20°C не приводят к значительным изменениям интенсивности инверсии на термограммах. Плавление эвтектики и плавление системы остаются неизменными. Смешение в соотношении 1:1 суспензий как эритроцитов, так и *Saccharomyces cerevisiae* со свежеприготовленными, а также фракциями экстракта, предварительно хранившегося при -20°C в течение 2,5 месяцев, приводит к значительному снижению интенсивности пика инверсии и пика плавления эвтектики. В смесях, возможно, происходит связывание определенной части молекул воды с органическими компонентами фракций экстрактов, и в образовании эвтектических составов вода уже не принимает участия.

Aqueous-saline placental extracts contain almost all the spectrum of biologically active substances, that is why the extracts are widely used in medicine. Moreover, due to the interaction of extract proteins and cells, they can be used as additives in multicomponent protective media during low-temperature preservation. The studies of the effect of separate fractions of the extracts on various biological systems under thermal exposure are relevant, since freeze-thawing is accompanied by a number of physical processes that can cause a certain damage of biosystems. This study deals with the phase transitions in fractions of extracts with a molecular mass of proteins up to 5 kDa, 50–70 kDa and 750 kDa, in suspensions of red blood cells, *Saccharomyces cerevisiae*, and in the mixtures of cell suspensions and fractions of extracts. The experiments were performed with a differential scanning calorimeter, designed and manufactured at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine. The samples were cooled by immersion in liquid nitrogen outside the calorimetric block. The cooling rate of the samples was $3.3(3)^\circ\text{C}/\text{s}$, and then they were placed into the calorimetric block pre-cooled down to -130°C . The thermograms were recorded under linear heating with the rate of $8.3(3)\times 10^{-3}^\circ\text{C}/\text{s}$ within the temperature range $-130\dots 0^\circ\text{C}$.

DSC thermograms of the fractions with a molecular mass of proteins up to 5 kDa from fresh placental extract comprised following thermal transitions: 1 – narrow exothermic peak at -85.5°C , that is likely associated with the inversion of molecules possessing carbon-carbon bonds (this effect is described usually with the term ‘configuration conversion’, that is associated with the process of isomerization); 2 – narrow intensive endothermic peak, that corresponds to the melting of the eutectic composition at -21°C , representing a mechanical mixture of NaCl crystals and water, and 3 – melting of the whole system.

Freezing and storage of extracts at -20°C did not lead to the significant changes in the intensity of inversion in the thermograms. Eutectic melting and melting of the system remain unchanged. The 1:1 mixture, both of erythrocytes and *Saccharomyces cerevisiae* suspensions with fresh extracts as well as with the fractions of the extract stored at -20°C for 2.5 months led to a significant reduction in the intensity of the inversion and the eutectic melting peaks. Probably the binding of a certain part of water molecules with organic components of extracts' fractions has been occurred in mixtures and as a result water was not involved into the formation of eutectic compositions.