

А. И. РОЗЕНБЕРГ

ИЗМЕНЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ БЕЛКОВ КРОВИ ПРИ СМЕШЕНИИ И ПЕРЕЛИВАНИИ КРОВИ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 5 IV 1949)

В основу настоящего исследования положены представления акад. А. А. Богомольца о коллоидо-классическом шоке при переливании крови, оказывающем стимулирующее действие⁽¹⁾. Исходя из этих представлений, мы связали наши опыты по смешению и переливанию крови с изучением состояния белков крови при этих процессах. Изучено было состояние белков крови в норме и после смешения и переливания крови. Как известно, всякий коллоид, независимо от его природы, имеет максимум устойчивости только при строго определенных условиях. При изменении этих условий устойчивость коллоида падает и в предельном случае может привести к коагуляции и седиментации. Главным фактором устойчивости лиофильных коллоидов является электрический заряд, главным фактором устойчивости лиофильных коллоидов — сольватация. Белки являются лиофильными коллоидами, и прибавление к раствору их посторонних веществ, понижающих их сольватацию, ведет к уменьшению их устойчивости.

Сольватная оболочка частиц лиофильного золя может быть нарушена разными факторами, среди которых первое место принадлежит дегидратирующим веществам, например спиртам. Характер добавляемых органических примесей, их концентрация, при прочих равных условиях, должны соответствующим образом сказаться на состоянии белков. Изучив картину свертываемости белков крови до и после смешивания и переливания крови, можно сделать заключение о характере изменений, вносимых процессом смешивания или переливания крови в белковую фракцию ее. Характер нашего исследования — изучение состояния белков крови при смешении и переливании крови — определил выбор фактора воздействия на белки крови.

Наиболее подходящим для этого случая нам представлялось воздействие на белки крови соответствующими добавками некоторых органических молекул. При этом мы исходили из того факта, что в процессах жизнедеятельности организма белки крови больше всего подвержены воздействию органических соединений, являющихся продуктами деятельности разных органов и тканей организма. Основным тестом мы избрали коагуляцию белков крови под влиянием добавок изоамилового спирта, как спирта с достаточно большим молекулярным весом, могущего в малых концентрациях сказываться на состоянии белков крови.

Чувствительность белкового субстрата крови к подобного рода воздействиям могла быть изучена разными способами, прямыми и косвенными. На практике пользуются преимущественно косвенными

методами, основанными на изучении физических и физико-химических изменений данной коллоидной системы. Сюда относятся: мутность, окраска, вязкость, седиментация, поверхностное натяжение, электропроводность и др. Мы остановили свой выбор на оптическом методе. О ходе коагуляционного процесса белков под влиянием добавок разных количеств изоамилового спирта мы судили по изменяющимся значениям мутности в микронейфелометре Клейнмана по сравнению с контрольной пробой, куда спирт не добавлялся (2).

Приводим примерную схему нашего опыта. Взята кровь собаки-донора (№ 1) для получения плазмы. Для предотвращения свертывания (выпадения фибриногена) к крови был добавлен раствор 4⁰/₀ цитрата натрия. Всего взято в градуированный стаканчик 2 см³ 4⁰/₀ раствора цитрата натрия и к ним при помешивании добавлено крови из вены собаки 18 см³. Общий объем смеси — 20 см³. Кровь центрифугировалась для того, чтобы осадить форменные элементы крови. Верхний прозрачный слой плазмы отсасывался. Аналогичным образом получена плазма собаки № 2. В отдельную колбочку взято 6 см³ плазмы собаки № 1 и 6 см³ плазмы собаки № 2. Из полученной смеси взяты 9 см³ и к ним добавлены 27 см³ физиологического раствора — 0,9⁰/₀ NaCl. После этого полученная смесь, а равно и каждая из исходных плазм (плазма собаки № 1 и плазма собаки № 2, разбавленные каждая физиологическим раствором в отношении 1:4) обрабатывались изоамиловым спиртом. Каждый из трех растворов обрабатывался изоамиловым спиртом по следующей схеме: в каждую из 5 колбочек с притертыми пробками бралось по 6 см³ данной плазмы и, кроме того,

во 2-ю колбочку	добавлялось	0,05 см ³	изоамилового спирта
в 3-ю	"	0,10 "	" "
" 4-ю	"	0,15 "	" "
" 5-ю	"	0,20 "	" "

Колбочки перебалтывались и оставлялись вместе с контрольной пробой плазмы 1-й колбочки (0 см³ спирта) на 2 часа, после чего все пробы подвергались нефелометрированию. В левую пробирку нефелометра наливалась контрольная проба и эта пробирка устанавливалась по шкале нефелометра на делении 20. В правую пробирку нефелометра наливалось поочередно содержимое каждой из остальных 4 колбочек с разной концентрацией изоамилового спирта и определялись относительные значения их мутностей по шкале нефелометра и нониусу. Опыты велись при комнатной температуре.

Полученные нефелометрические данные по трем растворам плазмы — двум исходным и смеси — использовались для получения нефелометрической кривой, характеризующей изменение стабильности кровяной плазмы под влиянием смешения. Аналогично производились определения и для сывороток *in vitro*, а также в опытах *in vivo*.

Условия опыта*

I серия (*in vitro*), рис. 1. Условия опыта: у козы и собаки взята кровь на 6⁰/₀ цитрате из расчета 1 см³ цитрата на 9 см³ крови. В рингер прибавлен цитрат из того же расчета. Кровь была отцентрифугирована и полученная плазма использована для опыта.

II серия (*in vivo*), рис. 2. Условия опыта: опыт поставлен с плазмой собаки. У козы взята кровь на цитрате и 50 см³ этой крови перелита собаке. У собаки кровь взята на исследование до того, как ей была перелита козья кровь (до шока), а также через 3 мин. и через 30 мин. после того, как ей была перелита козья кровь (после

* Здесь приводятся результаты 3 серий опытов; всего по данной работе проведено нами 20 серий опытов.

шока). Плазма собаки для исследования готовилась на цитрате. К 9 см³ взятой плазмы было добавлено 27 см³ рингера на цитрате (1 см³ цитрата + 9 см³ рингера). Затем смесь обрабатывалась изоамиловым спиртом.

Те же условия опыта приняты были в III серии опытов (рис. 3).

Обсуждение результатов

Рассматриваемое исследование имело целью выявить изменение стабильности белков крови при смешивании *in vitro* и при переливании

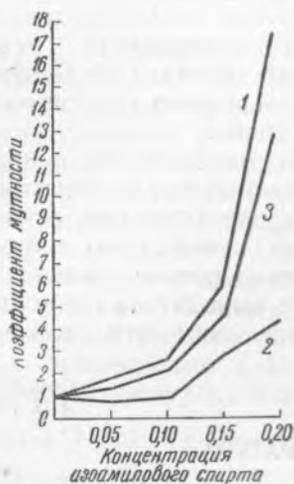


Рис. 1. Нефелометрические кривые изменения стабильности белков крови при смешении *in vitro*. 1 — собака, норма; 2 — коза, норма; 3 — коза + собака

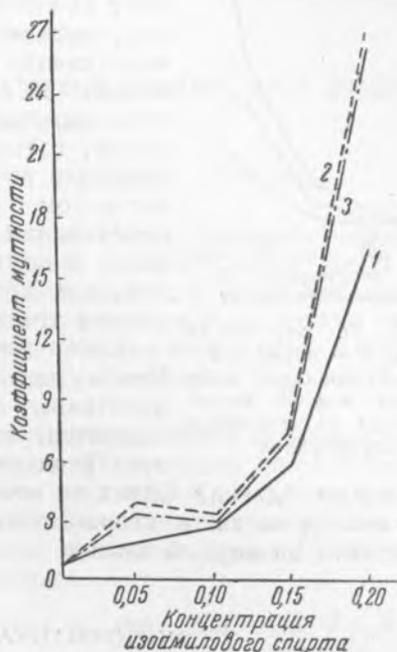


Рис. 2. Нефелометрические кривые изменения стабильности белков крови собаки при переливании *in vivo*. 1 — норма; 2 — через 3 мин. после переливания козьей крови; 3 — через 30 мин. после переливания

in vivo. Характер исследуемого объекта определил собою выбор соответствующего теста. Нам представлялось целесообразным связать это с чувствительностью белков крови к примесям дегидратирующих веществ, каковыми являются спирты.

Результаты опытов *in vitro* и *in vivo* оказались различными как в количественном, так и в качественном отношении. Анализируя группу опытов со смешением *in vitro*, мы наблюдаем картину, подобную той, которая нами описана в исследовании (3), где мы для этого пользовались методом коллоидоосмотического давления. При использовании более чувствительной методики — микронейфелометрии, полученные результаты оказались идентичными предыдущим. И здесь и там в результате оказанного на кровь воздействия, связанного со смешением ее *in vitro*, мы получили результат, представляющий примерно среднее арифметическое значение тех величин, которыми характеризовались в данном опыте исходные компоненты смеси. В данном исследовании еще в большей мере, чем в предыдущем, проглядывает тенденция белков смеси ориентировать свои отклонения от средней арифмети-

ческой величины всегда однозначно в сторону одного из белков исходных смешиваемых компонентов.

Другую картину мы наблюдаем при исследовании белков перелитой крови *in vivo*. Во всех опытах этой группы наблюдается одна и та же картина. Белки крови реципиента резко реагируют на белки крови донора, и эта реакция сопровождается явлениями шока, которые в наших опытах через известный промежуток времени сглаживались, и животное возвращалось в норму. Это очень наглядно показывают полученные нами нефелометрические кривые, которые дают резкий скачок сразу после переливания крови, в момент шока и через небольшой отрезок времени после этого, и постепенно выравниваются, почти приближаясь к норме, только через 24 часа.

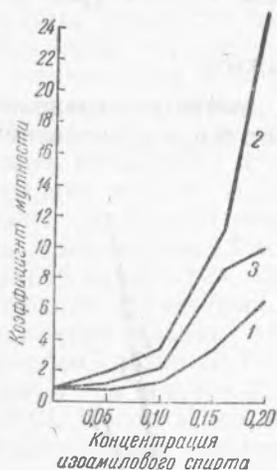


Рис. 3. То же, что на рис. 2. 1 — норма, 2 — через 30 мин, после переливания козьей крови, 3 — через 24 часа после переливания

измеряемые сдвиги? Ответ на этот вопрос выходит за пределы данного исследования и несравненно сложнее, чем это можно себе представить на первый взгляд.

Каков же, однако, механизм этого явления? Почему при смешении белков компоненты крови инактивны, а при переливании они сенсибилизируются, проявляют совершенно определенную реактивность, дают резкие, количественно измеряемые сдвиги? Ответ на этот вопрос выходит за пределы данного исследования и несравненно сложнее, чем это можно себе представить на первый взгляд.

Почему при смешении белков компоненты крови инактивны, а при переливании они сенсибилизируются, проявляют совершенно определенную реактивность, дают резкие, количественно измеряемые сдвиги? Ответ на этот вопрос выходит за пределы данного исследования и несравненно сложнее, чем это можно себе представить на первый взгляд.

Поступило
4 II 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. А. Богомолец, Современные проблемы гематологии и переливания крови, 16 (1938). ² А. Эйнен, Физико-химический анализ в производстве, 1936, стр. 145. ³ А. И. Розенберг, ДАН, 66, № 4 (1949).