

Л. Н. БРАЙНЕС, С. Н. БРАЙНЕС и Б. Я. СВЕШНИКОВ

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПЕРТОНИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ

(Представлено академиком С. И. Вавиловым 22 I 1951)

Выполненное одним из нас (Л. Н. Брайнесом) изучение спектров абсорбции крови крыс, находящихся в экспериментальном гипертоническом состоянии, показало заметное изменение поглощения в зоне γ -полосы спектра абсорбции гемоглобина. Так как поглощение в данной области характерно для соединений с замкнутым тетрапиррольным кольцом, то указанный факт рассматривался как доказательство того, что в процессе становления и развития экспериментального гипертонического состояния происходят какие-то изменения в составе и концентрации геминсодержащих комплексов крови*, к числу которых, как известно, относятся гемоглобин, ферритин и ряд окислительных ферментов, например каталаза, пероксидаза и геминфермент.

Задачей настоящей работы была попытка использовать указанные изменения в составе крови для целей диагностики экспериментальной гипертонии. При этом взамен абсорбционных изменений, не обладающих высокой чувствительностью, мы решили воспользоваться известным из литературы (4) свойством гемина служить катализатором реакции окисления фталаздионов. Эта реакция удобна потому, что она сопровождается излучением и измерение яркости свечения раствора может служить удобным индикатором кинетики реакции.

В отсутствие катализатора щелочные растворы многих фталаздионов при окислении их перекисью водорода светятся довольно слабо, но достаточно прибавить ничтожное количество гемина, ферритина, железосодержащих энзим крови или просто раствор, содержащий следы крови, как яркость свечения возрастает во много раз**. Это позволило нам надеяться констатировать с помощью изучения кинетики хемилюминесценции изменения в составе геминсодержащих комплексов крови при экспериментально воспроизведенном гипертоническом состоянии.

Работа состояла в измерении начальной интенсивности свечения и спада его со временем при добавлении крови крыс: 1) контроль-

* Данное наблюдение находит косвенное подтверждение в работе Мазур и Шорр (1), обнаруживших в крови больных эссенциальной гипертонией депрессорный фактор (VDM). Последний был идентифицирован ими с ферритином. В крови здоровых людей ферритин не обнаружен (2). Наконец, Е. Фрейфельд (2) отмечает, что при гипертонии имеет место эритроцитоз, т. е. увеличение концентрации гемоглобина.

** Вероятно, этот метод можно рекомендовать в лабораторной практике для определения следов крови в биологических жидкостях.

Таблица 1

Кинетика хемилюминесценции при приращении крови крыс до (А—контроль) и после (Б) воспроизведения экспериментального гипертонического состояния (интенсивность свечения относительно эталона)

№ опыта	Ш и ф р к р о в и	Лавление Крови в мм Р.т. ст.	Время в минутах от момента добавления крови															
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13			
989 А	КХ-16	87	6,61	7,94	6,03	5,13	3,55	2,75	—	4,47	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-16а	125	15	26,79	20,89	15,74	7,24	6,03	—	4,47	3,16	—	—	—	—	—	—	—
674 А	КХ-18	90	6,03	7,94	6,61	5,5	4,07	3,39	—	2,88	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-18а	142	11,78	22,08	23,17	14,29	10	8,51	—	6,31	3,16	—	—	—	—	—	—	—
900 А	КХ-19	85	5,75	7,24	6,61	4,9	4,27	3,39	—	2,63	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-19а	130	11,22	16,52	13,71	13,71	10	7,59	—	6,31	3,55	—	—	—	—	—	—	—
2155 А	КХ-20	100	6,92	9,33	7,24	5,13	3,89	3,02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-20а	135	16,52	25,53	19,95	14,29	8,51	6,61	—	5,75	3,02	—	—	—	—	—	—	—
439 А	КХ-21	98	5,5	6,61	7,24	5,13	3,39	2,75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-21а	128	15	24,32	19,1	12,36	10	7,59	—	6,31	3,02	—	—	—	—	—	—	—
771 А	КХ-22	93	6,31	8,51	7,24	4,68	3,39	2,75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-22а	143	16,52	23,17	28,12	15,74	11,22	8,51	—	6,61	3,89	—	—	—	—	—	—	—
720 А	КХ-23	88	6,92	9,33	7,59	5,13	3,89	2,88	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-23а	146	18,2	20,89	19,1	15	9,33	6,92	—	6,92	3,39	—	—	—	—	—	—	—
913 А	КХ-24	90	5,5	6,92	6,03	4,47	3,55	2,75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-24а	141	13,71	22,08	19,1	15	11,22	8,51	—	6,03	3,16	—	—	—	—	—	—	—
874 А	КХ-25	96	6,03	9,77	7,24	5,13	3,55	2,88	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-25а	127	15	20,89	26,79	16,52	10,69	6,92	—	5,13	3,02	—	—	—	—	—	—	—
566 А	КХ-26	99	6,92	10	8,51	5,75	3,55	3,16	—	2,63	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-26а	120	16,52	25,53	19,1	14,29	9,77	8,91	—	6,31	3,16	—	—	—	—	—	—	—
594 А	КХ-27	100	6,03	9,77	7,24	4,77	3,55	2,75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-27а	136	16,52	26,79	28,12	18,2	15,74	10,69	—	7,94	3,89	—	—	—	—	—	—	—
831 А	КХ-28	89	7,24	9,33	7,59	5,13	3,39	2,88	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-28а	125	24,32	28,12	35,81	24,32	18,2	13,71	—	19,71	5,13	—	—	—	—	—	—	—
478 А	КХ-29	85	5,75	7,24	5,75	4,27	3,16	2,63	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-29а	129	12,36	23,17	18,2	16,52	12,36	8,91	—	7,24	3,89	—	—	—	—	—	—	—
790 А	КХ-31	92	6,31	7,94	8,51	5,5	3,16	2,63	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-31а	139	16,52	19,95	28,12	19,95	15,74	11,22	—	7,94	4,07	—	—	—	—	—	—	—
311 А	КХ-32	89	6,03	8,51	6,61	4,68	3,39	2,88	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Б	КХ-32а	150	17,34	22,08	18,2	12,97	10	7,59	—	5,75	3,39	—	—	—	—	—	—	—

619 А	КХ-33	96	6,61	8,51	9,33	5,75	4,27	3,55	2,63	4,9	4,27	3,55	3,16	—	—
Б	КХ-33а	142	15,74	23,17	19,95	13,31	10,69	8,91	6,61	—	—	—	2,63	—	—
880 А	КХ-34	94	7,24	9,33	7,24	4,47	3,55	2,75	—	—	—	—	3,16	—	—
Б	КХ-34а	139	22,08	25,53	26,79	12,97	14,29	11,78	8,91	6,92	5,75	4,27	3,72	—	2,75
365 А	КХ-35	89	6,31	8,51	6,92	5,13	3,72	3,16	2,63	4,07	3,39	2,88	2,63	—	—
Б	КХ-35а	150	15,74	23,17	24,32	14,29	9,33	6,31	4,9	—	—	—	—	—	—
639 А	КХ-36	100	6,03	6,92	7,24	5,13	4,27	3,39	2,75	6,03	4,68	3,89	3,16	—	—
Б	КХ-36а	144	17,34	25,53	30,97	22,08	15	10,69	7,59	—	—	—	2,75	—	—
Среднее	{ Контроль (А)	92,6	6,4	8,52	7,53	5,3	3,79	2,97	2,7	—	—	—	—	—	—
	{ Опыт (Б)	136,6	15,89	22,39	22,5	15,47	11,14	8,71	6,66	5,26	4,24	3,48	3,1	2,84	2,7

ных — до воспроизведения гипертонического состояния и 2) тех же крыс после воспроизведения указанного состояния. Определение интенсивности производилось фотометром с кубиком Люммера. Источником сравнения служило свечение стандартного раствора, где происходила та же реакция окисления, но без добавления крови.

Исследованию подверглись 50 крыс. Гипертоническое состояние достигалось с помощью биологического метода, разработанного в Институте экспериментальной биологии Академии медицинских наук СССР. Критерием наличия гипертонического состояния было устойчивое повышение кровяного давления. Последнее определялось плетизмографическим методом. Кровь для опытов по хемилюминесценции бралась микропипеткой из хвостовой вены крысы.

Полученные протокольные данные для части крыс* воспроизведены в табл. 1, а средние данные для кинетики хемилюминесценции при добавлении крови крыс, находящихся в гипертоническом состоянии, и крови тех же крыс до наступления этого состояния показаны на рис. 1.

Из рис. 1 видно, что при добавлении крови контрольных крыс начальная интенсивность хемилюминесценции возрастает в 6—7 раз по сравнению с интенсивностью хемилюминесценции стандартного раствора, в то время как при добавлении крови крыс, находящихся в гипертоническом состоянии, начальная интенсивность превышает стандарт в 14—15 раз. Столь же большое различие имеется и для максимальной интенсивности свечения раствора, которая достигается через 2—3 мин. после добавления крови.

Естественно было бы предположить, что более резкое увеличение начальной интенсивности хемилюминесценции при добавлении крови крыс, находящихся в гипертоническом состоянии, приведет к сокращению времени спада свечения до стандарта, однако, как показывает рис. 1, это не имеет места. Напротив, время спада интенсивности свечения более ярко светящегося раствора значительно больше, чем время спада интенсивности свечения более слабо светящегося раствора. Таким образом, время, в течение которого исследуемый раствор достигает свечения стандартного раствора, может также служить ценным диагностическим признаком.

* Результаты для остальных 31 крысы оказались аналогичными.

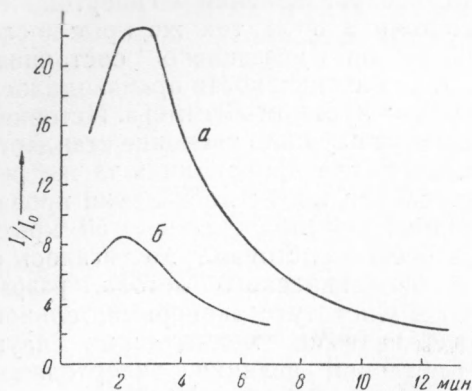


Рис. 1. Кривые кинетики хемилюминесценции при прибавлении: *a* — крови крыс, находящихся в гипертоническом состоянии, и *b* — крови контрольных крыс

Для диагностических целей весьма важно, чтобы индивидуальные отклонения в интенсивности хемилюминесценции у здоровых крыс были значительно меньше различий в интенсивности свечения между крысами, находящимися и не находящимися в экспериментальном гипертоническом состоянии.

Табл. 1 показывает, что действительно индивидуальные отклонения интенсивности хемилюминесценции у здоровых крыс не превышают 10—12%, в то время как различие в интенсивности хемилюминесценции при прибавлении крови крыс, находящихся

в гипертоническом и нормальном состоянии, не ниже 120—150%.

Поступило
19 IX 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. Mazur and E. Shorr, Journ. Biol. Chem., 176, 11 (1948). ² E. Фрейфельд, Гематология, 1934. ³ S. Granick, Journ. Biol. Chem., 149, 157 (1943). ⁴ Б. Я. Свешников, Изв. АН СССР, сер. физ., 9, 341 (1945).