

С. Э. КРАСОВИЦКАЯ, Л. А. БЛЮМЕНФЕЛЬД и А. М. ЧАРНЫЙ

**СКОРОСТЬ РЕАКЦИИ ТРАНСГЕМИРОВАНИЯ
ДЛЯ ГЕМОГЛОБИНА КРОВИ РАЗЛИЧНЫХ СОСУДИСТЫХ
ОБЛАСТЕЙ В НОРМЕ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 6 XI 1951)

Открытие и исследование реакции трансгемирования^(1, 2) и изучение кинетики этой реакции⁽³⁾ показали, что первичным элементарным актом при переходе гема с глобина на другой белок является диссоциация гемоглобина на гем и глобин. Таким образом, скорость реакции трансгемирования при прочих равных условиях характеризуется прочностью связи гема с глобином в гемоглобине, и изучение скорости этой реакции может служить методом, позволяющим судить о состоянии гемоглобина.

Нами была поставлена серия опытов по определению скорости реакции трансгемирования у собак для оксигемоглобина, выделенного из крови различных сосудистых областей.

Для исследования кровь бралась из бедренной артерии, вены и яремной вены. Всего было поставлено 15 опытов на взрослых собаках.

Полученная одновременно из 3 сосудов оксалатная кровь для отделения плазмы центрифугировалась в течение 15 мин. при 2000 об/мин. Эритроциты трижды промывались физиологическим раствором с последующим центрифугированием. Отмытые эритроциты подвергались гемолизу 10-кратным объемом дистиллированной воды; гемолизат центрифугировался при 3000 об/мин в течение 30 мин. Прозрачный раствор оксигемоглобина разбавлялся дистиллированной водой до нужной исходной концентрации (порядка $5 \cdot 10^{-6}$ M, считая на гем).

Исходная концентрация точно определялась на фотоэлектрическом спектрофотометре по поглощению при λ 576 м μ (молярный коэффициент поглощения при данной длине волны был принят равным 15 340).

Реакция трансгемирования проводилась при температуре 38,6° в термостатируемых сосудах. Для реакции использовался всегда 1,8% раствор желатины марки Tg-195 в фосфатном буфере при pH 5,3—5,6.

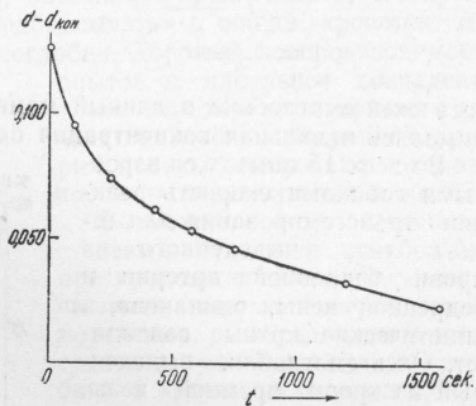


Рис. 1. Опыт 14. Кинетика реакции трансгемирования для оксигемоглобина, выделенного из яремной вены

Специальным исследованием было показано, что скорость реакции трансгемирования в этом интервале рН не зависит от концентрации водородных ионов. рН измерялось при помощи водородного электрода. Исходный раствор оксигемоглобина разбавлялся 2% раствором желатины в фосфатном буфере при температуре 38,6° до концентрации оксигемоглобина $5 \cdot 10^{-6}$ М и концентрации желатины 1,8%.

Из 15 опытов со взрослыми собаками в 10 опытах начальная концентрация оксигемоглобина была $2,5 \cdot 10^{-6}$ М, а в 5 опытах — $5 \cdot 10^{-6}$ М. Начальная концентрация в $2,5 \cdot 10^{-6}$ М удобнее и дает хорошо воспроизводимые результаты. С момента разбавления оксигемоглобина раствором желатины начиналась реакция трансгемирования с распадом оксигемоглобина и образованием гемижелатины. Скорость реакции измерялась на фотоэлектрическом спектрофотометре по поглощению при λ 414 м μ . Измерения проводились через каждые 2—3 мин. Полученные данные обычным способом пересчитывались на процентное содержание оставшегося оксигемоглобина в данный момент времени, причем за 100% принималась начальная концентрация оксигемоглобина.

Во всех 15 опытах со взрослыми собаками скорость реакции трансгемирования для гемоглобина, выделенного из крови бедренной артерии и бедренной вены, одинакова, и кинетические кривые совпадают. Оксигемоглобин, выделенный из крови яремной вены, обладает иными свойствами. В 6 случаях из 15 реакция трансгемирования шла быстрее, чем для гемоглобина обоих вышеупомянутых сосудов, в 3 случаях — медленнее и в 6 случаях — одинаково. На рис. 1 показано, как ложатся экспериментальные точки на кинетическую кривую на примере яремной вены собаки № 14. По оси абсцисс отложено время в секундах, по оси ординат — разность между оптической плотностью в данный момент времени (d) и оптической плотностью в конце реакции ($d_{\text{кон}}$).

На рис. 2, 3, 4 приведены кинетические кривые для опытов №№ 12, 13 и 15. Точки для гемоглобина, выделенного из бедренной артерии, бедренной вены и яремной вены, обозначены: O, ●, x, соответственно.

На рис. 2, 3, 4 приведены кинетические кривые для опытов №№ 12, 13 и 15. Точки для гемоглобина, выделенного из бедренной артерии, бедренной вены и яремной вены, обозначены: O, ●, x, соответственно.

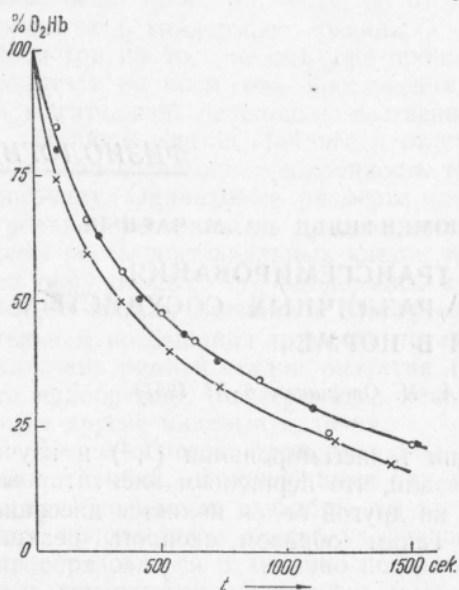


Рис. 2. Опыт 13

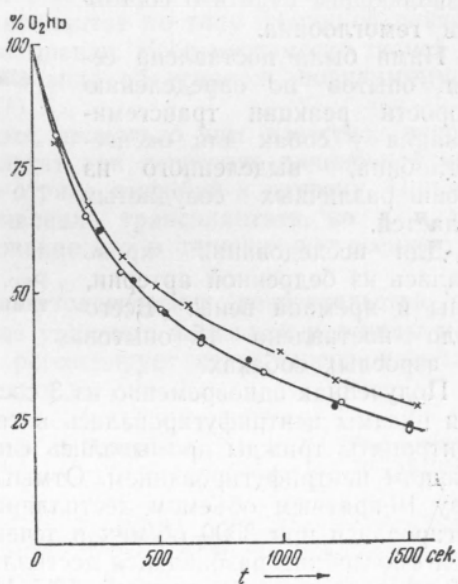


Рис. 3. Опыт 12

Результаты 15 опытов, полученные на взрослых собаках, сведены в табл. 1, где в качестве меры скоростей взят период полупревращения $T_{1/2}$ — время, за которое распалось 50% исходного оксигемоглобина.

Ни в одном случае не удалось уловить каких-либо спектральных различий между различными исследованными препаратами оксигемоглобина.

Таким образом, прочность связи гема с глобином в гемоглобине крови, отходящей от мозга, может отличаться от прочности связи гема с глобином в крови остальных сосудов.

В литературе уже имелись указания на то, что в крови одного индивидуума содержатся различные типы гемоглобина (4). Характер полученных нами отличий (в некоторых случаях связь прочнее, в других — слабее,

в третьих — одинаковой прочности) заставляет предполагать, что кровь, проходящая через мозг, может «подбрасывать» в общий кровоток тем или иным образом измененный гемоглобин. Хорошая воспроизводимость опытов и идеальное совпадение точек кинетических кривых для оксигемоглобина бедренной артерии и вены исключают возможность экспериментальных ошибок.

Возможно, что изменение степени лабильности гемоглобина при прохождении его через мозг является частью регуляторного механизма, поддерживающего среднюю устойчивость гемоглобина в крови, а следовательно, и скорость его метаболизма, на определенном необходимом уровне. О механизме этого явления ничего определенного пока сказать нельзя; можно только отметить, что в нескольких предварительных опытах нам удалось показать, что добавление ничтожных количеств некоторых веществ к раствору оксигемоглобина способно резко изменить реакцию трансгемирования, а следовательно,

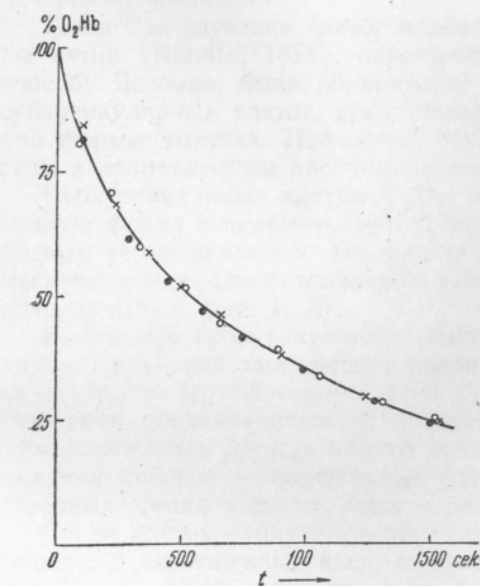


Рис. 4. Опыт 15

прочность связи гема с глобином, не влияя сколько-нибудь заметным образом на его спектральную характеристику. В качестве рабочей гипотезы можно предположить, что при прохождении крови через мозг к ней могут добавляться вещества подобного типа.

Суммируя результаты исследования, можно отметить следующее:

1. Реакция трансгемирования является новым тонким методом исследования состояния гемоглобина, позволяющим установить различия,

Таблица 1

№ опыта	Начальная концентр. HbO ₂ в М·10 ⁴	T _{1/2} в сек.		
		бедр. арт.	бедр. вена	яремн. вена
1	5	480	480	410
2	5	640	—	590
3	5	480	480	480
4	5	590	590	430
5	5	600	600	600
6	2,5	440	440	510
7	2,5	440	440	400
8	2,5	420	420	420
9	2,5	430	430	430
10	2,5	470	470	525
11	2,5	470	470	470
12	2,5	440	440	510
13	2,5	450	450	350
14	2,5	—	470	390
15	2,5	540	540	540

не улавливаемые другими доступными методами, и, следовательно, представляет большую ценность для физиологического исследования.

2. Скорость распада оксигемоглобина на гем и глобин в крови яремной вены отличается от скорости его распада в крови других сосудистых областей. Можно предположить, что это является частью механизма, регулирующего устойчивость гемоглобина в крови.

Центральный институт усовершенствования врачей
Министерства здравоохранения СССР

Поступило
31 X 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. М. Чарный и Л. А. Блюменфельд, ДАН, **73**, 1001 (1950). ² Л. А. Блюменфельд и А. М. Чарный, ДАН, **75**, 873 (1950). ³ Л. А. Блюменфельд, ДАН, **78**, 539 (1951). ⁴ R. Lemberg and J. Leggc, *Hematin Compounds and Bile Pigments*, N. Y., 1949, pp. 319—322.