

Р. А. РУТБЕРГ

К ВОПРОСУ О КАТАЛИТИЧЕСКОМ УСКОРЕНИИ ПРОЦЕССА СВЕРТЫВАНИЯ ПЛАЗМЫ

(Представлено академиком А. И. Опариным 26 I 1953)

Как известно, свертывание цитратной плазмы зависит от самых различных факторов: содержания фибриногена, протромбина и тромбопластина, температуры окружающей среды и т. д. При прочих равных условиях скорость свертывания зависит до определенного предела от концентрации кальция. Существует, однако, оптимальная концентрация кальция (0,06%), при которой свертывание наступает наиболее быстро⁽¹⁾.

В человеческой крови, освобожденной от кальция при помощи ионообменной смолы амберлит 1R100, оптимальная концентрация кальция для свертывания плазмы равна 0,00388 M⁽²⁾. Однако в литературе имеется указание, что при помощи амберлит 1R100 не удалось полностью освободить плазму от кальция⁽³⁾. Декальцифицируя кровь амберлит 1R100 и другими ионообменными смолами, Апплецевейг извлек не свыше 80% кальция. Если учесть эту поправку, то оптимальная концентрация для свертывания крови будет несколько более высокой, чем указывает Стефанини. С уменьшением количества кальция время свертывания удлиняется, а при достижении пороговой величины не наступает вовсе. Аналогичным образом действует избыток кальция.

В процессе свертывания, помимо упомянутых выше факторов, определенную роль играет поверхность контакта. Работами ряда авторов установлено, что при соприкосновении с шероховатой поверхностью свертывание крови ускоряется. Были высказаны различные представления о значении поверхности контакта для свертывания крови. Большая часть исследователей связывает роль контакта с участием кровяных пластинок.

В настоящее время нельзя с достоверностью сказать, существует ли связь между скоростью свертывания, поверхностью контакта и содержанием кальция в крови. По Бордэ, в присутствии Ca⁺⁺ поверхность контакта способствует превращению просерозима (неактивная форма протромбина) в серозим (протромбин)⁽⁴⁾. Встречаются вместе с тем указания, что процессы, вызванные поверхностью контакта, могут наступать и в декальцифицированной среде. Этим, возможно, и объясняется появление сгустков фибрина при длительном хранении цитратной плазмы.

В совместной работе с Д. Л. Рубинштейном мы высказали предположение что свертывание плазмы, наступающее при ее фильтрации через стерилизующие пластинки, вызвано активацией трипсина протромбина на пограничной поверхности. Активность трипсина связана с уменьшением или исчезновением в условиях адсорбции ингибирующего действия антитрипсина⁽⁵⁾. Несомненно, поверхность контакта играет определенную роль в процессе свертывания крови и должна, следовательно,

иметь значение и для свертывания цитратной плазмы. Выяснение этого вопроса может иметь как теоретическое, так и практическое значение.

В настоящей работе мы поставили перед собой следующие задачи: 1) выяснить значение поверхности контакта для свертывания плазмы и 2) изучить зависимость скорости свертывания от содержания кальция в плазме и поверхности контакта. Чтобы получить четкое представление о значении поверхности контакта для скорости свертывания плазмы, мы воспользовались порошкообразным веществом, которое при небольшом количестве имеет большую поверхность контакта. Изучалось действие ряда порошкообразных веществ: инфузорной и иезекиевской земель х. ч. окиси алюминия, каолина, талька, гумбина, кварцевого песка, сухого фибрина, цемента, активированного угля и др.

Опыты проводились следующим образом. К навеске порошкообразного вещества (от 2 до 50 мг) прибавлялся 1 мл цитратной плазмы и 5% раствор безводного хлористого кальция в количестве, соответствующем задаче опыта. Скорость свертывания устанавливалась от момента прибавления к плазме хлористого кальция до образования плотного фибринового сгустка. Контролями во всех опытах служили: 1) проба плазмы с добавлением хлористого кальция, без порошкообразного вещества; 2) проба плазмы с порошкообразным веществом, но без хлористого кальция.

Многочисленные опыты показали, что введение в плазму определенных порошкообразных веществ приводит к ускоренному свертыванию плазмы (см. табл. 1). Каталитическое ускорение процесса свертывания не всегда одинаково по величине для одного и того же вещества, что зависит, вероятно, от качественной характеристики плазмы. Характерно, что вещества различной химической природы способны вызвать каталитическое ускорение процесса свертывания цитратной плазмы. Это особенно четко проявляется при уменьшении количества хлористого кальция.

Как видно из данных табл. 2, снижение количества прибавленного хлористого кальция вызывает вначале значительное удлинение скорости свертывания — с 15 до 45 мин. При

Таблица 1

Скорость свертывания плазмы в присутствии катализаторов (концентрация кальция оптимальная) (в мин.)

Катализатор	Плазма с катализатором	Контроль — исходн. плазма
Инфузорная земля	4	7,5
Х. ч. окись алюминия	6	7,5
Тальк	4	7,5
Сухой фибрин	4	7,5
Активированный уголь	5	7,5
Иезекиевская земля	7	11
Гумбин	5,5	11
Каолин	5	10
Кварцевый песок	7	12

дальнейшем снижении концентрации кальция свертывание не наступает. В присутствии же катализатора образование нормального фибринового сгустка имеет еще место при добавлении 0,060 мг кальция на 1 мл плазмы. Это количество кальция во много раз меньше того, которое необходимо для свертывания плазмы без катализатора. В случае особо активных катализаторов (как, например, инфузорная земля) свертывание плазмы может наступить иногда за счет собственного кальция плазмы.

Таким образом, наличие катализатора создает условия наступления свертывания при малых концентрациях кальция, так как в плазме всегда имеется избыток цитрата натрия и, следовательно, количество ионизированного кальция чрезвычайно незначительно. Этот факт заслуживает осо-

бого внимания, так как показывает, что кальций в процессе образования тромбина не принимает непосредственного участия в реакции, а необходим лишь для начала процесса превращения протромбина в тромбин,

процесса, который развивается, возможно, по типу цепной реакции на поверхности контакта. При этом чем менее активна поверхность контакта, тем больше нужно кальция для осуществления цепной реакции.

Следует подчеркнуть, что если при добавлении оптимального количества кальция (1—2 мг Са на 1 мл плазмы) почти все перечисленные выше вещества вызывают примерно одинаковое ускорение процесса свертывания, то с уменьшением концентрации кальция выявляется заметное различие в каталитической активности. Так, если при добавлении 0,54 мг Са к 1 мл плазмы свертывание в контрольной пробе наступает за 58 мин., а в присутствии инфузорной земли за 14 мин. или талька за 32 мин., то при прибавлении 0,36 мг Са ни в контрольной пробе, ни в плазме, содержащей тальк, свертывание уже не наступает; только в плазме с инфузорной землей имеет место образование фибринового сгустка за 37 мин.

Опыты показали, что количество катализатора не оказывает заметного влияния на ускорение процесса свертывания. Так как образование первых волокон фибрина происходит на катализаторе, можно было предположить, что ускорение активации протромбина происходит на поверхности катализатора. Однако наши дальнейшие наблюдения показали, что процесс активации протромбина в тромбин проходит в две фазы: на поверхности катализатора происходит подготовительная стадия процесса перехода протромбина в тромбин, которая заканчивается при участии кальция уже в самой плазме.

Таблица 2

Влияние концентрации кальция на скорость свертывания плазмы

Прибавлено Са в мг на 1 мл плазмы	Плазма с катализатором (инфузорная земля 10 мг)	Контроль — исходн. плазма
2,000	13 м.	15 м.
1,000	13 "	15 "
0,500	20 "	45 "
0,250	34 "	Нет свертывания
0,130	1 ч. 45 м.	
0,060	3 ч. 15 м.	
0,030	Через 24 часа облако фибрина	
0,015	То же	
Контроль	Нет свертывания	

Таблица 3

Зависимость между временем действия катализатора и скоростью свертывания плазмы (катализатор — инфузорная земля)

Прибавлено Са в мг на 1 мл плазмы	Время действия катализатора				Контроль — исходн. плазма
	1 м.	10 м. *	20 м. *	24 ч. *	
Скорость свертывания в мин.					
0,36	9	38	40	Нет свертывания	33
0,28	11	40	40	То же	105
0,22	16	45	45	"	Нет свертывания
0,14	21	45	45	"	То же
0,07	45	—	—	"	"

* Хлористый кальций прибавлялся после удаления катализатора.

Как показано в табл. 3, в тех случаях, когда катализатор находился в плазме в течение 10, 20 мин. и затем удалялся до прибавления кальция, свертывание почти во всех случаях наступало быстрее, чем в контрольной пробе. Если же кальций прибавлялся после удаления катали-

затора, который находился 24 часа в плазме, то свертывание совсем не наступало. Кальций, повидимому, принимает участие в первоначальной фазе процесса свертывания, которая осуществляется на поверхности катализатора.

Одновременное присутствие в плазме катализатора и Са приводит к более быстрому свертыванию по сравнению с теми опытами, в которых кальций прибавляется после удаления катализатора. Первую или подготовительную фазу процесса свертывания, которая осуществляется при участии активной поверхности, можно рассматривать как процесс перехода неактивных предшественников протромбина или тромбопластина в их активную форму, которая уже затем при взаимодействии с кальцием образует тромбин. О наличии в плазме протромбина или тромбопластина в неактивной форме говорят данные многих исследований. Кудряшевым открыт в крови фермент тромботропин, который и вызывает переход неактивного тромбопластина в активную форму⁽⁶⁾. Вопрос о механизме превращения неактивной формы в активную и причине ускорения этого перехода в присутствии катализатора остается открытым. Возможно, что катализатор отрывает ингибитор реакции свертывания или, напротив, адсорбирует активное начало, отрывая его от ингибитора.

Можно высказать также предположение, что превращение неактивных форм в активную происходит на поверхности распавшихся тромбоцитов и в этом, помимо освобождения тромбопластина, заключается влияние распада тромбоцитов на процесс свертывания крови. В свете этого предположения вызывает определенный интерес исключительная устойчивость пластинок крови гемофиликов по сравнению с пластинками нормальной крови⁽⁷⁾.

Явление катализа реакции свертывания может быть использовано на практике для ускорения процесса получения сыворотки из плазмы и для уменьшения количества кальция, необходимого для рекальцификации цитратной плазмы.

Исходя из этих предпосылок, нами разработан метод дефибринирования плазмы, позволяющий, не удлиняя процесса свертывания, осуществлять его при добавлении к плазме малых количеств хлористого кальция. Это делает возможным переливание любых количеств полученной сыворотки без опасения вызвать гиперкальцемию у реципиента.

Центральный институт гематологии и
переливания крови

Поступило
23 VI 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ E. Wöhlisch, *Erg. Physiol.*, **43**, 174 (1940). ² M. Stefanini, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **67**, No. 1, 22 (1948). ³ H. Апплецевейг, *Ионный обмен*, М., 1951. ⁴ Bordet, цит. по M. Burstein, *La coagulation du sang*, 1949. ⁵ Д. Л. Рубинштейн, Р. А. Рутберг, *Сборн. Современные проблемы гематологии и переливания крови*, в. 22—23, 40 (1946). ⁶ Б. А. Кудряшев, *ДАН*, **60**, № 8, 1469 (1948). ⁷ И. А. Кассирский, Г. А. Алексеев, *Болезни крови и кроветворной системы*, 1948.