

И. И. ИСЛАМОВ

## ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВ КРОВИ И ОТЕЧНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОТЕКЕ ЛЕГКИХ У СОБАК

(Представлено академиком А. И. Абрикосовым 14 V 1954)

Изучение белкового состава экссудатов и транссудатов имеет большое значение для выяснения патогенеза воспаления и отека. Поэтому в литературе встречается большое количество указаний на определения белков в экссудатах и транссудатах <sup>(3)</sup>. Однако все эти исследования были проведены до появления электрофоретического метода анализа белков и потому дают лишь ориентировочное представление об истинном белковом составе выпотов.

В связи с изучением в нашей лаборатории под руководством И. А. Ойвина патогенеза воспаления и отека нам необходимо было получить данные о белковом составе крови и отечной жидкости при развитии экспериментального токсического отека легких. Это побудило нас применить один из наиболее современных и точных способов исследования белков — электрофоретический метод.

**Методика.** Исследования были проведены на 25 собаках разной масти и разного пола, весом от 4,5 до 26 кг. Собакам подкожно вводился 2% раствор солянокислого морфина из расчета 0,5—0,75 мл на 1 кг веса. Отпрепаровывались бедренные сосуды и из бедренной вены бралась кровь для исследования. Через 30—45 мин. после введения солянокислого морфина собаке внутривенно вводился 0,25% раствор азотнокислого серебра. В части опытов раствор вводился из расчета 0,5 мл, а в части — 0,75 мл на 1 кг веса животного. При таких дозировках отек легких, как правило, развивался через 15—45 мин. после введения азотнокислого серебра. Критерием развития отека легких и показанием для взятия крови на высоте развития отека легких служило появление влажных хрипов в легких и выделение пенистой жидкости из рта и носа. Для повторного исследования кровь бралась у собаки за несколько минут до смерти. Затем обнажалась трахея и разрезалась ниже щитовидного хряща. Из трахеи собирались 10—15 мл отечной жидкости. Затем на трахею накладывался кишечный жом (чтобы не потерять отечную жидкость), вскрывалась грудная клетка, легкие и сердце вынимались из грудной полости и взвешивались для определения коэффициентов Л/Т (отношение веса легких к весу тела) и С/Л (отношение веса сердца к весу легких).

Общее количество белка в отечной жидкости и в сыворотке крови определялось погружным рефрактометром типа ИРФ-1.

Исследования белковых фракций отечной жидкости и сыворотки крови после диализа против 0,1 М вероналового буфера (рН 8,6 при 20°) производились в сконструированном в нашей лаборатории электрофоретическом аппарате с оптической схемой Г. В. Троицкого <sup>(4)</sup>. Детали методики диализа описаны в работе <sup>(2)</sup>, а примененная методика электрофоретических измерений — в работе <sup>(1)</sup>.

Одновременно определялся удельный вес цельной крови, плазмы и отечной жидкости купросульфатным методом. По величинам удельных

весов цельной крови и плазмы при помощи номограмм, предложенных Филлипсом и Ван-Слайком, узнавалось процентное содержание белка в плазме, процент гемоглобина и гематокритное число в крови. В части опытов гематокритное число определялось гематокритом (45 мин. при 3000 оборотов в 1 минуту).

Во время опыта проводилась запись дыхания (манжетка, соединенная с капсулой Маррея, укреплялась на грудной клетке) и кровяного давления. Артериальное давление записывалось в бедренной артерии, а венозное давление измерялось водяным манометром в бедренной вене.

Результаты. На высоте развития отека легких у собак артериальное кровяное давление резко снижалось, а венозное изменялось незначительно. Дыхание урежалось, становилось неправильным. При вскрытии отмечалась гиперемия всех внутренних органов. Наличие жидкости в брюшной, грудной, плевральной и перикардимальной полостях не отмечалось. Легкие всегда были резко увеличены, местами на поверхности их отмечались массивные кровоизлияния, на разрезе выступала пенящаяся жидкость. Венозная система была переполнена кровью, а артериальная система находилась в спавшемся состоянии.

Для характеристики степени развития отека легких приводим значения коэффициентов  $L/T$  и  $C/L$  на высоте развития отека легких. В среднем в наших опытах  $L/T = 0,045$  (нормальное значение — около 0,01) и  $C/L = 0,2$  (нормальное значение — около 0,8).

В табл. 1 приведены в виде средних данных результаты исследований удельного веса цельной крови, плазмы и отечной жидкости, а также гематокритных чисел, вычисленных по номограмме и измеренных гематокритом.

Таблица 1

Удельный вес цельной крови, плазмы, отечной жидкости и гематокритные числа крови при развитии отека легких

| Условия исследования | Удельный вес  |        |                  | Гематокритные числа    |                     |
|----------------------|---------------|--------|------------------|------------------------|---------------------|
|                      | цельной крови | плазмы | отечной жидкости | рассчит. по номограмме | измер. гематокритом |
| До опыта             | 1,055         | 1,024  | —                | 43                     | 44                  |
| На высоте отека      | 1,058         | 1,026  | 1,020            | 46                     | 56                  |

Из табл. 1 видно, что развитие отека легких сопровождается увеличением удельного веса цельной крови и плазмы. Гематокритные числа крови возрастают. Расхождение между рассчитанными по номограмме и измеренными гематокритом гематокритными числами подтверждает обнаруженный в нашей лаборатории Н. А. Горбуновой факт, что купросульфатный метод Филлипса и Ван-Слайка не пригоден для исследования сгущенной крови.

Из изложенных данных следует, что кровь при развитии отека сгущается, процент белка в ней нарастает, а содержание белка в отечной жидкости меньше, чем в сыворотке крови (как известно, между удельным весом плазмы и содержанием в ней белка существует прямая зависимость).

Статистически обработанные результаты электрофоретических исследований белкового состава крови 13 собак представлены в табл. 2.

При примененной нами методике мы обнаружили на электрофоретической крови сыворотки крови собак 6 пиков. Один из них принадлежал альбумину, а 5 — глобулинам. Это соответствует литературным данным. Так, 6 пиков были обнаружены в сыворотке крови собак М. Я. Ходос<sup>(5)</sup>,

Таблица 2

Белковый состав крови собак при развитии отека легких

|  | Белок в г на 100 мл сыворотки | Альбумин (А) в % к общ. колич. белка в сыворотке | Глобулины (Г) в % к общ. колич. белка в сыворотке |            |           |           |          | А/Г |
|--|-------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------|-----------|-----------|----------|-----|
|  |                               |                                                  | $\alpha_1$                                        | $\alpha_2$ | $\beta_1$ | $\beta_2$ | $\gamma$ |     |

## До опыта

|            |      |      |     |      |      |      |      |      |
|------------|------|------|-----|------|------|------|------|------|
| <i>M</i>   | 5,8  | 42,0 | 8,3 | 12,8 | 12,8 | 12,2 | 11,9 | 0,72 |
| <i>m</i> ± | 0,16 | 2,9  | 0,5 | 1,4  | 1,3  | 1,9  | 1,5  | 0,10 |

## При развитии отека легких

|            |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| <i>M</i>   | 6,3  | 39,0 | 10,2 | 13,8 | 13,2 | 12,3 | 11,2 | 0,65 |
| <i>m</i> ± | 0,19 | 3,1  | 1,2  | 1,3  | 1,2  | 0,7  | 0,9  | 0,10 |

Раппапортом, Кларком и Стюартом (7). В соответствии с обозначениями, принятыми Ходос, мы означали эти фракции как  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -, и  $\gamma$ -фракции. Эти фракции обнаруживались как в крови нормальных собак, так и в крови и отечной жидкости при развитии отека легких.

Из данных табл. 2 следует, что при развитии отека легких в крови уменьшается относительное содержание альбумина и альбумин-глобулиновый коэффициент, содержание белков (в г %) увеличивается.  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -фракции глобулинов имеют тенденции к нарастанию.

Результаты электрофоретических исследований белкового состава отечной жидкости 13 собак представлены в табл. 3.

Таблица 3

Белковый состав отечной жидкости при развитии токсического отека легких у собак

|            | Белок в г на 100 мл отечной жидкости | Альбумин (А) в % к общ. колич. белка в отечной жидкости | Глобулины (Г) в % к общ. колич. белка в отечной жидкости |            |           |           |          | А/Г  |
|------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------|-----------|-----------|----------|------|
|            |                                      |                                                         | $\alpha_1$                                               | $\alpha_2$ | $\beta_1$ | $\beta_2$ | $\gamma$ |      |
| <i>M</i>   | 4,9                                  | 47,0                                                    | 9,3                                                      | 12,4       | 10,6      | 10,5      | 11,2     | 0,87 |
| <i>m</i> ± | 0,16                                 | 2,5                                                     | 1,1                                                      | 1,0        | 1,2       | 0,9       | 1,5      | 0,10 |

Из табл. 3 видно, что содержание белка в отечной жидкости меньше, чем в крови. Относительное содержание альбумина и альбумин-глобулиновый коэффициент в отечной жидкости больше, чем в крови. Создается впечатление, что содержание  $\beta$ -фракции глобулинов в отечной жидкости уменьшено в сравнении с кровью.

При принятой нами дозировке азотнокислого серебра у всех собак развивается отек легких, заканчивающийся быстрым наступлением смерти. Представляло интерес вычисление количества жидкости и белка, переходящих из сосудистого русла в отечную жидкость при столь быстро и интенсивно развивающихся отеках легких. При расчетах мы приняли количество крови у собаки равным  $1/13$  веса, а вес нормальных легких — 0,01 веса тела. При определении количества плазмы мы исходили из показаний гематокрита. Одновременно вычислялись количества жидкости и белка, перешедших из тканей в сосудистое русло во время развития отека легких. Полученные данные представлены в табл. 4.

Таблица 4

Количество белка и жидкости, переходящих из крови в отечную жидкость и из ткани в кровь при развитии токсического отека легких

| Собаки |          | Исходн. колич. плазмы в мл | Колич. отечн. жидк. в мл | Исходн. колич. белка в плазме в г | Колич. белка в отечн. жидк. в г | % белка, перешедш. в отечн. жидк. | Колич. жидкости, поступивш. из тканей в кровь, в мл | Колич. белка, перешедш. из тканей в кровь в г |
|--------|----------|----------------------------|--------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| №      | вес в кг |                            |                          |                                   |                                 |                                   |                                                     |                                               |
| 17     | 8,5      | 379                        | 315                      | 17,8                              | 13,3                            | 75                                | 272                                                 | 12,5                                          |
| 18     | 26,0     | 1260                       | 990                      | 79,4                              | 48,5                            | 61                                | 129                                                 | —3,4                                          |
| 19     | 18,5     | 795                        | 465                      | 44,5                              | 22,3                            | 50                                | 223                                                 | 9,9                                           |
| 20     | 18,5     | 682                        | 565                      | 45,6                              | 31,6                            | 69                                | 331                                                 | 16,9                                          |
| 24     | 16,0     | 763                        | 470                      | 53,4                              | 22,1                            | 41                                | 46                                                  | 3,1                                           |
| 25     | 21,0     | 985                        | 740                      | 58,1                              | 34,0                            | 59                                | 211                                                 | 5,1                                           |

Как видно из табл. 4, в отечную жидкость переходит до 75% от всего количества белка, циркулировавшего в плазме у собаки до развития отека легких. Интересно отметить, что сгущение крови на высоте развития отека (по данным гематокрита) значительно меньше того, которого следовало бы ожидать, исходя из количества жидкости, накапливающейся в легких. Это объясняется поступлением жидкости и белков из тканей в сосудистое русло при развитии отека (табл. 4). На переход жидкости из тканей в сосудистое русло при дифосгеновом отеке легких указывают исследования А. М. Чарного<sup>(6)</sup>. Однако скорость поступления жидкости в сосудистое русло меньше скорости перехода ее в легкие при быстром развитии отека. Это приводит к увеличению концентрации белка в сыворотке и плазме крови собак на высоте развития отека легких. Несмотря на столь быстрое выхождение белка из сосудистого русла в легочный отек, переход белков не теряет известной избирательности. Концентрация белка в отечной жидкости меньше, чем в крови, а альбумин-глобулиновый коэффициент выше. Следовательно, несмотря на развитие нарушений проницаемости легочных капилляров, их проницаемость для альбумина остается более высокой, чем для глобулинов.

Сталинабадский государственный  
медицинский институт  
им. Авиценны

Поступило  
12 IV 1954

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Н. И. Ойвин, Биохимия, 18, 3, 329 (1953). <sup>2</sup> И. А. Ойвин, В. И. Ойвин, В. И. Сомин, Вopr. мед. химии, 3, 229 (1951). <sup>3</sup> Н. Н. Сиротинин, Воспаление, в книге Руководство по патологической физиологии под ред. А. А. Богомольца, 1, 1, Киев, 1940. <sup>4</sup> Г. В. Троицкий, Биохимия, 15, 6, 592 (1951). <sup>5</sup> М. Я. Ходос, Электрофоретическое исследование белковых фракций крови при экспериментальной гипертензии. Автореферат диссертации, М., 1952. <sup>6</sup> А. М. Чарный, Токсический отек легких, М., 1935. <sup>7</sup> А. М. Rapport, D. W. Clarke, M. Stewart, Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., 80, 4, 585 (1952).