

57
A-23

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ ССР
АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени С. М. КИРОВА

На правах рукописи.

Л. С. АЛЕХИНА

**РОЛЬ УГЛЕВОДОВ В СТАБИЛЬНОСТИ БЕЛКОВЫХ
СИСТЕМ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

БАКУ — 1967

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ ССР

АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени С. М. КИРОВА

На правах рукописи

Л. С. АЛЕХИНА

РОЛЬ УГЛЕВОДОВ В СТАБИЛЬНОСТИ БЕЛКОВЫХ
СИСТЕМ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель: доктор
биологических наук, — профессор
Т. Д. ГАЙБОВ

БАКУ — 1967

Работа выполнена в Азербайджанском научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови Министерства здравоохранения Азербайджанской ССР (директор—доктор мед. наук Г. А. Гусейнов, зав. лабораторией—доктор биологических наук Н. А. Рзаев).

Решением Ученого совета биологического факультета Азербайджанского Государственного университета им. С. М. Кирова официальными оппонентами назначены:

1. Член-корр. АН Азерб. ССР, заслуженный деятель науки профессор А. С. Гасанов.
2. Доктор медицинских наук, проф. С. Р. Оджахверди-заде.

Научное учреждение, дающее отзыв о работе: Ереванский Государственный университет Арм. ССР.

Защита состоится *12 апреля*. 1967 г. на заседании Ученого совета биологического факультета Азербайджанского Государственного университета им. С. М. Кирова: Баку, ул. Патриса Лумумбы, 23.

Дата рассылки автореферата *3 марта* 1967 г.

284007

Центральная научная
БИБЛИОТЕКА
Академии наук Киргизской ССР

Гемотерапия, превзойдя всякие ожидания клиницистов, стала мощным биологическим методом лечения не только в гематологических, но и в хирургических и терапевтических клиниках. Кровь и ее препараты являются надежным фактором в лечении лучевого поражения.

С развитием науки о переливании крови оформляется специальная наука — «гемотрансфузиология». Эта новая отрасль медицинской науки развивается благодаря достижениям теории и практики консервирования крови и её препаратов.

За последние десятилетия в решении проблемы консервирования крови были достигнуты большие успехи как в изыскании наиболее эффективных противосвертывающих средств, так и в направлении поиска средств, способствующих поддержанию клеток крови в физиологически полноценном состоянии.

Решению вопроса о сохранении эритроцитов в физиологически полноценном состоянии способствовали исследования по изучению структуры красных кровяных телец, изменений их в процессе хранения и исследования обменных процессов в клетках консервированной крови.

Впервые Д. Н. Беленький (1930) предложил применять в консервированной крови глюкозу. После этого глюкоза прочно вошла в состав консервирующих растворов и стала предметом дальнейших многочисленных исследований в этой области.

Ряд авторов (С. Е. Северин, 1946; Д. Н. Рубинштейн, 1946; Н. Б. Черняк, 1953 и др.) вскрыли зависимость между прекращением обменных процессов в эритроцитах и развитием процесса гемолиза в консервированной крови. Глюкоза, как энергетический субстрат, весьма необходима для поддержания обменных процессов в эритроцитах и для удлинения сроков хранения форменных элементов крови в физиологически полноценном состоянии.

Изучая значение глюкозы для консервирования крови, С. Е. Северин с сотрудниками пришли к заключению, что глюкоза стабилизирует коферменты углеводного обмена клеток крови и тем самым оказывает благоприятное действие на консервацию крови, способствует удлинению срока ее хранения.

П. С. Васильев с сотрудниками установили, что глюкоза и другие углеводы стабилизируют белково-липидные комплексы консервированной крови. Действием глюкозы стабилизируются гемоглобин, липиды и структурные белки-стромагин эритроцитов.

Таким образом, при изыскании рациональных методов консервирования крови проводились всесторонние исследования, направленные, главным образом, на изучение структуры эритроцитов и тех изменений, какие они претерпевают в процессе хранения, а также на изучение обменных процессов красной кровяной клетки.

Помимо процесса гликолиза на сохранность эритроцитов влияет и процесс обмена веществ, который происходит между плазмой и форменными элементами крови. Основными компонентами плазмы крови являются белки и их комплексообразования с углеводами и липидами в виде белково-углеводных, липидно-белковых и липидно-углеводных комплексов.

Значение липидно-белковых комплексов в консервированной крови изучено П. С. Васильевым с сотрудниками. Что касается углеводно-белковых и углеводно-липидных комплексов в консервированной крови, то они остаются еще недостаточно изученными, между тем как комплексообразование углеводов с белками и липидами имеет большое биологическое значение для полноценного консервирования крови.

По данным нашей лаборатории (Т. Д. Гайбов с сотрудниками), углеводно-белковые комплексы донорской крови и комплексообразование углеводов в консервированной крови имеют определенное физиологическое значение для полноценного хранения консервированной крови.

В настоящее время твердо установлено, что в зависимости от условий консервации процесс гемолиза может развиваться в результате нарушения осмотического равновесия между клеткой и окружающей средой или в результате распада белково-липидных комплексов. Изменения, происходящие в эритроцитах, зависят от их электропроводности, нарушения эластичности и проницаемости их оболочки, а так же изотонии и изононии плазмы консервированной крови.

В поддержании осмотического равновесия консервированной крови несомненно важную роль играют белки плазмы. Известно, что в процессе хранения претерпевает изменение фракционный состав белков плазмы. Что касается качественных изменений белков плазмы при хранении, то этот вопрос остается еще недостаточно изученным.

До настоящего времени недостаточно исследованы и вопросы длительного хранения плазмы в глюкозо-цитратном растворе в нативном состоянии,

Учитывая вышесказанное, мы поставили перед собой задачу—исследовать значение углеводно-белковых и углеводно-липидных комплексов в консервированной крови и их роль в стабилизации ее белковых структур, что особенно важно для решения теоретических и практических основ консервирования крови.

МЕТОДИКА

Для решения поставленной задачи мы изучали изменения углеводно-белковых и углеводно-липидных комплексов в консервированной крови при различных сроках ее хранения и различных методах консервации. Параллельно исследовалась структурная вязкость плазмы, время застудивания, а также содержание белка и его фракции.

Проводимые комплексные исследования помогли нам выяснить значение комплексообразования углеводов с белками и липидами в консервированной крови.

Данная работа посвящена изучению значения углеводов в стабильности белковых систем консервированной крови.

Исследование проводилось в консервированной крови при различных сроках хранения (1-й, 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день) в 4 сериях.

I серия — контрольная; кровь заготавливалась на 3,5% растворе кислого лимоннокислого натрия.

II серия — кровь заготавливалась на глюкозо-цитратном растворе с малым содержанием глюкозы (250 мг%).

III серия — кровь заготавливалась на растворе ЦОЛИПК № 7 с большим содержанием глюкозы (600 мг%).

IV серия — заготавливалась плазма на цитратном и глюкозо-цитратном растворах без эритроцитов.

Кровь, приготовленная на 3-х первых консервирующих растворах, в день заготовки после осторожного перемешивания в стерильных условиях разливалась в пробирки, герметически закрывалась и хранилась в холодильнике при температуре +4°, +6° в течение 28 дней. Каждый раз в день опытов отбирались две пробы крови.

Одна проба использовалась для определения общего, свободного и связанного сахара в цельной крови, в плазме и эритроцитной массе, другая — для определения содержания общего белка и его фракций, времени застудивания и величины ее структурной вязкости (до и после нагревания). Пробы, в которых был гемолиз, не подвергались анализу, ибо наличие гемоглобина в плазме могло исказить результаты определения содержания белка и его качественных показателей.

Поэтому плазма данной пробы отсасывалась без предварительного перемешивания.

IV серия опытов проводилась в плазме, хранившейся отдельно от эритроцитной массы. Кровь для данной серии от одного и того же донора заготавливалась на 3,5% растворе цитрата натрия и на глюкозо-цитратном растворе (консервант серии II). Через сутки после отстаивания и центрифугирования плазму в стерильных условиях отделяли от эритроцитов, разливали в стерильные пробирки и изучали вышеуказанные показатели в динамике в течение месяца.

Во всех сериях опытов определялось содержание общего и свободного сахара по методу Н. П. Кочневой. Разница между общим и свободным сахаром давала нам связанных сахар.

Определение общего азота проводилось в плазме и дефибринированной плазме по методу Кьельдаля. Для подсчета общего белка нами определялся остаточный азот калориметрическим методом (фотоэлектрокалориметром). Фракции белков мы определяли методом солевого осаждения.

Время тепловой коагуляции (застудневания) сыворотки определялось по методу Ф. С. Околова, модифицированному В. Я. Козловой. Величину структурной вязкости до и после нагревания определяли по методу П. С. Васильева, В. Я. Козловой, Е. Ф. Бахтиной, вискозиметром Оствальда при помощи прибора Вунгенберга де Ионга Ленса и Кройта.

Чтобы исключить влияние концентрации белка на величину структурной вязкости и время застудневания, все анализы проводились при постоянном проценте белка — 5% (сыворотку с большим содержанием белка разводили 1% раствором хлористого натрия).

Исследование содержания общего, свободного и связанного сахара и белковых систем плазмы, заготовленной на растворе кислого лимоннокислого натрия, в процессе хранения

Для исследования качественных изменений белковых систем плазмы крови, консервированной на 3,5% растворе кислого лимоннокислого натрия, в процессе хранения нами изучалось время тепловой коагуляции и структурная вязкость сыворотки дефибринированной плазмы до и после нагревания.

Из полученных результатов видно, что коллоидные системы нативных белков плазмы (до нагревания) в 1-й день заготовки не обладают значительной структурной вязкостью. При увеличении сроков хранения кривая зависимости η от r для исходной сыворотки меняет свою направленность. Это связано с тем, что величина $\Delta\eta$ увеличивается к 28 дню почти в 2 раза.

При удлинении сроков хранения кривые структурной вязкости прогретой сыворотки располагаются выше, чем кривая структурной вязкости той же сыворотки в день заготовки, и наклон этих кривых к оси абсцисс более резко выражен. Это говорит о том, что в прогретой сыворотке отчетливо выявляются процессы структурообразования по сравнению с исходной. Статистическая обработка указывает на достоверность полученных данных ($P < 0,001$).

Изменение времени тепловой коагуляции (застудневания) показывает, что с увеличением срока хранения время застудневания уменьшается почти в пять раз.

При хранении консервированной крови содержание общего белка почти не изменяется, но наблюдается перераспределение его фракции. Количество альбуминов в процессе хранения снижается, а количество глобулинов (грубодисперсные белки) нарастает ($P < 0,001$).

Наиболее существенное изменение претерпевает сахар крови: наблюдается снижение общего, свободного и связанного сахара ($P < 0,001$). В течение данного срока хранения отмечалось значительное снижение связанного сахара.

Подводя итог исследований, можно заключить, что возросшая чувствительность белков сыворотки крови в процессе хранения обусловлена снятием стабилизирующего действия сахара. Снижение общего, свободного и особенно связанного сахара приводит к нарушению стабильности белковых систем консервированной крови.

Исследование содержания общего, свободного и связанного сахара и белковых систем плазмы крови, заготовленной на растворе кислого лимоннокислого натрия с глюкозой и на растворе ЦОЛИПК № 7

Для подтверждения правильности сделанного нами вывода проведена специальная серия опытов с кровью; в состав консервирующего раствора была добавлена глюкоза в различных концентрациях. В одном случае вводилось в день заготовки 250 мг% глюкозы; во втором — раствор ЦОЛИПК № 7 600 мг%.

Сравнивая данные содержания сахара I серии опытов (кислый лимоннокислый натрий без глюкозы) со II серией (лимоннокислый натрий + глюкоза) видно, что в I серии в цельной крови снижение свободного сахара происходило меньше, чем в II серии.

Полученные данные показывают, что потребление свободного сахара происходит более интенсивно в крови, заготовленной на глюкозо-цитратном растворе, чем в крови, заготовленной на цитрате.

О более интенсивном потреблении сахара в глюкозо-цитратной крови имеются указания в исследованиях Ф. Г. Гинзбург (1946) по нарастанию содержания молочной кислоты и в исследованиях Н. П. Карасевой (1946) по уменьшению содержания сахара в процессе хранения крови, заготовленной на цитрате и глюкозо-цитратном растворах.

В процессе хранения, наряду с уменьшением содержания свободного сахара, происходит уменьшение и связанной формы сахара ($P < 0,001$). Освободившийся сахар из комплексной связи, повидимому, с белком также утилизируется эритроцитом в процессе хранения, о чем свидетельствует закономерно наблюдаемое снижение содержания общего сахара.

Однако в некоторых опытах, наряду с уменьшением общего содержания сахара, мы не наблюдали значительного снижения свободного сахара (14-й и 21-й дни). Этот факт можно объяснить тем, что процесс освобождения сахара из связанной формы превалирует над процессом потребления его эритроцитами.

В I серии опытов в крови, консервированной без глюкозы, содержание сахара в эритроцитах несколько выше, чем в плазме, а в глюкозо-цитратной крови (серия II и III) наоборот, содержание сахара в эритроцитах меньше, чем в плазме. Аналогичные данные описаны в литературе (Н. П. Карасева, 1946; В. М. Эфендиева, 1952 и др.).

В процессе хранения крови эритроциты потребляют как свободный сахар, так и освободившийся из связанной формы. Отсюда нам представляется возможным высказать предположение, что уменьшение содержания свободного сахара не может считаться достаточно объективным критерием для суждения об интенсивности гликолитического процесса. Можно было бы согласиться с мнением ряда авторов об использовании для характеристики гликолитического процесса результатов определения молочной кислоты (С. Д. Балаховский 1932; Ф. Г. Гинзбург, 1946; И. И. Федоров, Р. Н. Акимова, 1958 и др.).

Добавленная глюкоза в количестве 600 мг% (ЦОЛИПК № 7) во много раз превышала количество глюкозы в вышеописанных консервирующих средах. Содержание общего, свободного и связанного сахара в цельной крови, эритроцитной массе и плазме постепенно снижается (статистически достоверно).

Характерное изменение связанного сахара наблюдается в крови, заготовленной на растворе ЦОЛИПК № 7. Наибольшее увеличение связанного сахара наблюдается не в день заготовки, как это было видно в крови, заготовленной на глюкозо-цитратном растворе, а на 7-й день хранения.

При рассмотрении данных изменения времени застудневания бросается в глаза следующий факт: в плазме, консервированной на растворе ЦОЛИПК № 7, на 28-й день хранения содержание общего сахара — 801 мг%; связанного — 420 мг%, время застудневания равно 16 минутам. В глюкозо-цитратной плазме, где общий сахар на 28-й день консервации равен 418 мг%, связанный — 238 мг% время застудневания равно 10 минутам.

Данное положение о защитном действии определенных концентраций сахаров на тепловую денатурацию сывороточных белков находит свое отражение в работе Керекес Медард (1963).

Для изучения биокolloидов в глюкозосодержащих смесях опытов, кроме времени застудневания исследовалось общее содержание белка и структурная вязкость плазмы до и после нагревания.

Рассматривая в дефибринированной плазме кривые зависимости pt от p в динамике, видно, что кривая зависимости pt от p располагается почти параллельно оси абсцисс как для исходной сыворотки, так и подвергшейся нагреванию.

Однако кривая зависимости pt от p нативной сыворотки (негретой) располагается несколько выше такой же кривой для контрольной (цитратной) из-за наличия в ней глюкозы. Кривая зависимости pt от p для прогретой сыворотки, напротив, располагается ниже соответствующей кривой контрольной, что говорит о наличии процессов структурообразования в сыворотке контрольной крови при нагревании. С удлинением сроков хранения происходит нарастание величин Δ_1pt , Δ_2pt и Δ_3pt ($P < 0,001$), но нарастание этих величин в глюкозо-цитратной сыворотке менее резко выражено по сравнению с контрольной.

Более низкие значения Δ_1pt , Δ_2pt и Δ_3pt в сыворотке глюкозо-цитратной крови свидетельствуют о менее выраженном процессе структурообразования.

Существенных различий в изменении структурной вязкости плазмы, заготовленной на растворе ЦОЛИПК № 7, по сравнению с глюкозо-цитратной кровью не выявлено.

Кривая зависимости pt от p до нагревания располагается почти так же, как и в глюкозо-цитратной, т. е. несколько выше кривой контрольной-цитратной (из-за наличия глюкозы), а для прогретой сыворотки — ниже контрольной.

Естественно, что величины Δ_1pt , Δ_2pt и Δ_3pt при различных сроках хранения однозначны с данными величинами глюкозо-цитратной крови.

При рассмотрении данных определения общего белка и его фракции в плазме, заготовленной на глюкозо-цитратном раст-

воре и на растворе ЦОЛИПК № 7, видно, что общий белок в обеих сериях почти не изменяется ($P > 0,5$), заметнее изменяется фракционный состав плазмы.

В плазме, заготовленной на глюкозо-цитратном растворе, количество альбуминов снижается, а глобулинов — повышается ($P < 0,001$), тогда как в плазме, заготовленной на растворе ЦОЛИПК № 7, мы имели незначительное понижение альбуминов ($P = 0,05$) и глобулинов ($P < 0,1$).

Таким образом выявляется существенное различие в содержании фракции белка в зависимости от концентрации глюкозы, т. е. высокая концентрация глюкозы (600 мг%) обеспечивала сохранение белковых систем крови в более стабильном состоянии на протяжении всего срока хранения.

Наблюдаемые изменения фракции белка, повидимому, являются следствием недостаточной стабилизации структуры белковой молекулы, о чем указывалось выше. Благодаря этому белковые молекулы подвергаются агрегации и выпадают в осадок в виде грубодисперсной фракции.

Главной причиной качественных изменений белковых систем крови при хранении является уменьшение содержания сахара. Это более высокое содержание глюкозы в крови, заготовленной на растворе ЦОЛИПК № 7, к 28 дню хранения, позволяет предположить, что в данной крови устойчивость белковых структур к тепловому воздействию будет сохраняться более длительное время, чем испытанный нами срок хранения.

При удлинении сроков хранения, повидимому, выявились бы различия в устойчивости белковых систем крови к тепловому воздействию.

Изучение влияния глюкозы на белковые системы консервированной плазмы в процессе хранения

В данном разделе нами изучалось качественное изменение белков плазмы, хранившейся отдельно от эритроцитной массы, консервированной на 3,5% растворе цитрата натрия и глюкозо-цитратном растворе с содержанием глюкозы 250 мг%. Изучение изменения времени застудивания и величины структурной вязкости также проводилось под контролем содержания различных форм сахара. При исследовании содержания сахара в динамике выявлено некоторое его снижение, причем оно было менее резко выражено, чем в I серии опытов.

Если сравнить уменьшение всех видов сахара в глюкозо-цитратной плазме, хранившейся отдельно от эритроцитной массы, то в последнем случае, так же, как и в цитратной (без эритроцитов) заметное уменьшение общего, свободного и связанного сахара происходит в течение первых 2 недель, а

затем это уменьшение незначительное. Такое небольшое снижение сахара в первые 2 недели в IV серии опытов обусловлено, вероятно, наличием лейкоцитов и тромбоцитов.

В результате уменьшения сахара в плазме происходит изменение и в содержании фракционного состава белка плазмы как в цитратной так и в глюкозо-цитратной, т. е. к 28 дню в обеих случаях происходит нарастание грубодисперсной фракции и уменьшение альбуминов.

Уменьшение содержания сахара, изменение белковой фракции нашли свое отражение и в качественном состоянии дефибрированной плазмы.

При сравнении данных IV серии опытов с данными I серии выявляются одни и те же закономерности, а именно: возрастание величины структурной вязкости сыворотки, свидетельствующее о развитии в ней процессов структурообразования. Кривые зависимости pt от p до и после нагревания в I серии располагаются несколько выше кривых IV серии. Такое расположение кривых нашло также отражение в изменении величин Δ_1pt , Δ_2pt и Δ_3pt .

В результате можно сделать заключение, что в опытах, где имеется более высокое содержание сахара в цитратной плазме, отделенной от эритроцитной массы (IV серия), несколько лучше стабилизирована белковая молекула плазмы, чем в I серии опытов.

Данные времени застудивания еще раз подтверждают это положение: на протяжении всего срока хранения белок плазмы, консервированной на 3,5% растворе цитрата натрия и хранившейся отдельно от эритроцитов, более стоек к температурному воздействию, чем белок плазмы I серии.

В глюкозо-цитратной плазме, отделенной от эритроцитов (IV серия), до нагревания кривые зависимости pt от p при всех сроках хранения располагаются выше, чем в безглюкозной этой же серии; после нагревания, наоборот, в глюкозо-цитратной плазме на протяжении всего срока хранения они располагаются ниже, что свидетельствует о более выраженных процессах структурообразования в цитратной плазме.

В IV серии опытов величины Δ_1pt , Δ_2pt и Δ_3pt в глюкозо-цитратной плазме ниже, чем в цитратной этой же серии. В обеих случаях происходит нарастание этих величин в течение 28 дней.

В глюкозо-цитратной плазме, хранившейся вместе с эритроцитами (II серия), и в глюкозо-цитратной плазме, отделенной от эритроцитов (IV серия), величины Δ_1pt , Δ_2pt и Δ_3pt почти одинаковы.

Если сопоставить средние данные изменения времени застудивания плазмы II серии опытов с IV серией, видно, что в без-

эритроцитной плазме, где количество глюкозы более высокое, устойчивость белков плазмы к температурному воздействию выше.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено изучению качественных и количественных изменений белков плазмы крови в процессе хранения, выяснению влияния на белковые системы крови различного содержания сахара.

Для качественной характеристики белковых систем плазмы крови нами применялись следующие методы исследования: определение структурной вязкости дефибринированной плазмы до и после нагревания, а также определение времени ее застудневания (желатинизации); это позволило по величине и характеру ответной реакции на тепловое воздействие судить об особенностях белковых систем крови при хранении.

Исследование структурной вязкости показало, что белки дефибринированной плазмы, используемой в качестве контроля (I серия опытов), в день заготовки крови структурной вязкостью не обладают. По мере хранения выявляется некоторая тенденция белков плазмы крови к процессам структурообразования. Особенно четко эти процессы выявляются после нагревания дефибринированной плазмы; нагревание, усиливая процессы структурообразования, позволяет более отчетливо выявить состояние биокolloидов плазмы.

Величины $\Delta_1 pt$, $\Delta_2 pt$ и $\Delta_3 pt$ в цитратной плазме возрастают по мере удлинения сроков хранения. При удлинении сроков хранения кривые структурной вязкости прогретой сыворотки располагаются выше, чем кривая структурной вязкости той же сыворотки в день заготовки, и наклон этих кривых к оси абсцисс более резко выражен.

О развитии процессов структурообразования мы судили по увеличению структурной вязкости и уменьшению времени застудневания.

Изменение величины структурной вязкости было настолько резко выражено, что для ее изучения пришлось выработать новый температурный режим $+62^\circ - 30$ минут, так как обычно применяемый температурный режим $+66^\circ - 30$ минут (П. С. Васильев, В. Я. Козлова, Е. Ф. Бахтина, А. С. Кукель и др.) не мог быть использован для наших исследований.

По данным ряда исследователей (С. Д. Балаховский, Ф. Г. Гинзбург, П. И. Бутиков, П. С. Васильев, Н. П. Карасева, С. Е. Северин, Т. Д. Ганбов, Е. Н. Цварава, Т. О. Жвания, М. А. Рождественская, С. Н. Аллавердян, Ю. М. Иргер, Р. Е. Гинзбург, Л. С. Ротфельд, М. С. Блангер, С. Л. Белдуин и др.) наи-

более существенное изменение в процессе хранения консервированной крови претерпевает сахар.

Изменение же связанного сахара в консервированной крови почти не исследовано, между тем как белковый сахар консервированной крови стабилизирует белки и биокolloиды крови.

По нашим данным, наряду с уменьшением свободного сахара в процессе хранения, имело место и снижение содержания связанного сахара.

Уменьшение общего, свободного и связанного сахара в цельной крови, в эритроцитной массе и плазме происходит во всех консервирующих средах, что приводит к дестабилизации белковой молекулы в процессе хранения.

Введение в консервированную кровь глюкозы до $250 \text{ мг} \%$ не оказывало существенного влияния на величину структурной вязкости плазмы до нагревания; величина же структурной вязкости после нагревания становится более низкой по сравнению с контрольной-цитратной. Это свидетельствует о менее интенсивном структурообразовании вследствие дополнительного стабилизирующего действия глюкозы. При сопоставлении величин $\Delta_1 pt$, $\Delta_2 pt$ и $\Delta_3 pt$ сыворотки контрольной-цитратной и глюкозо-цитратной, видно, что нарастание этих величин менее выражено.

Рассматривая данные времени застудневания глюкозо-цитратной сыворотки и сравнивая их с данными цитратной крови видно, что сыворотка глюкозо-цитратной крови на 28 день коагулировалась за 10 минут, в то время как сыворотка контрольной крови при этом же сроке хранения коагулировалась за 5 минут.

Данная концентрация глюкозы вызывала частичную стабилизацию белков плазмы при хранении. Об этом свидетельствует изменение фракции белков крови — уменьшение количества альбуминов и увеличение грубодисперсных белков, наблюдаемое и при хранении контрольной крови, а также нарастание величины структурной вязкости после нагревания по мере удлинения сроков хранения.

Увеличение концентрации глюкозы в консервированной крови до $600 \text{ мг} \%$ (раствор ЦОЛИПК № 7) обеспечивает сохранение белка и его фракций в более стабильном состоянии на протяжении всего срока хранения, т. е. количество альбуминов к 28 дню почти не уменьшается.

Наличие высоких концентраций глюкозы придает белкам повышенную устойчивость к тепловому воздействию, что видно из определения времени застудневания (желатинизации). Время застудневания на протяжении всего срока хранения

остается самым высоким в дефибринированной плазме, консервированной на растворе ЦОЛИПК № 7; в день заготовки крови оно равно 30 минутам, на 28-й день 16 минутам. Дефибринированная плазма в глюкозо-цитратной крови с начальным содержанием глюкозы 250 мг% менее устойчива к температурному воздействию. Самое низкое время застудневания — в дефибринированной плазме цитратной крови.

Глюкоза (600 мг%), добавленная в кровь, консервированную на растворе ЦОЛИПК № 7, не вызывает дальнейшей стабилизации белковых систем плазмы крови, о чем свидетельствует одозначность величин структурной вязкости данной крови, заготовленной на глюкозо-цитратном растворе. В процессе хранения крови, заготовленной на растворе ЦОЛИПК № 7, наблюдалось также увеличение структурной вязкости.

Повидимому для стабилизации белковой молекулы необходима какая-то оптимальная концентрация глюкозы. Уменьшение ее в составе белково-углеводного комплекса из-за перехода связанной формы сахара в свободную, что наблюдалось по мере потребления свободного сахара эритроцитами, приводит к повышению чувствительности белка к тепловому воздействию. Иными словами — уменьшение сахара в процессе хранения из-за протекающего гликолиза является достаточным для повышения чувствительности белка к тепловому воздействию.

Наблюдаемые П. С. Васильевым и Н. П. Карасевой (1951) в процессе хранения довольно постоянные значения величин структурной вязкости коллоидных систем эритроцитов обусловлены очень высокими концентрациями глюкозы. Конечная концентрация глюкозы в исследованиях авторов составляла 2,5%.

При таких высоких концентрациях глюкозы в консервированной крови частичное ее уменьшение не сказывается на изменении устойчивости белковых систем эритроцитов к температурным воздействиям. Авторы высказывают предположение, что стабилизирующее действие глюкозы обусловлено тем, что глюкоза, проникая из консервирующего раствора в эритроциты, адсорбируется на их белковых частицах, содействуя тем самым их стабилизации. Наши исследования подтверждают это положение: при добавлении в кровь глюкозы возрастает содержание связанной формы сахара как в эритроцитах, так и в плазме.

В крови, консервированной на глюкозо-цитратном растворе, увеличение связанной формы сахара наблюдалось уже в день заготовки крови. В крови, консервированной на растворе ЦОЛИПК № 7, наибольшее увеличение связанной формы са-

хара отмечалось на 7-й день хранения. Повидимому имеющиеся в составе данного консервирующего раствора антисептики в первые дни более сильно адсорбируются на поверхности белковой молекулы.

Таким образом, при избытке свободной глюкозы в окружающей среде она переходит в связанную форму, образуя белково-углеводные комплексы, обуславливающие стабильность белковой системы.

При уменьшении свободного сахара в окружающей среде уменьшается и связанная форма сахара, что приводит к понижению стабильности белковой системы. В крови, заготовленной на лимоннокислом натрии, где крайне небольшое содержание свободной глюкозы, к 28 дню хранения в связанной форме осталось ее всего 149 мг%. В глюкозо-цитратной крови сахар в связанной форме составлял 275 мг% и в крови, консервированной на растворе ЦОЛИПК № 7, — 448 мг%.

Различное содержание сахара в системе и, как нам представляется, главным образом, его связанной формы, обуславливает различную устойчивость белковых систем крови к температурному воздействию, на что нами указывалось выше.

В крови, заготовленной на растворе ЦОЛИПК № 7, хотя и не наблюдалось дальнейшей стабилизации белковых систем по сравнению с глюкозо-цитратной по данным измерения структурной вязкости, можно предположить, что белковые системы будут находиться в более стабильном состоянии при дальнейшем удлинении сроков ее хранения.

Таким образом можно заключить, что между свободной и связанной формами сахара существует определенное динамическое равновесие, зависящее от концентрации свободного сахара.

В наших опытах содержание глюкозы было сравнительно невысоким (250 мг%—600 мг%) по сравнению с содержанием сахара в опытах П. С. Васильева и Н. П. Карасевой (2,5%). В связи с этим стабильность белковых структур плазмы крови сохранялась лишь при небольших сроках хранения. Иными словами для стабилизации требуется какое-то определенное количество сахара.

При очень высоких концентрациях сахара (2,5%) уменьшение сахара в процессе гликолиза не сказывается на стабильности белковых систем, однако это будет иметь место только до каких-то пределов.

Большая чувствительность белковых систем к изменению содержания сахара в процессе хранения подтверждает наше предположение о наличии между белком и углеводами лабильных, повидимому, адсорбционных связей.

Нарушение равновесия между формами сахара имеется и при хранении плазмы. При хранении сыворотки без глюкозы осадок выпадает через 2—4 месяца, тогда как в сыворотке с глюкозой выпадение белков наблюдалось лишь через 6—12 месяцев (Г. Я. Розенберг, Т. Т. Болотина, Н. Д. Папуш и А. А. Тихонова).

Если в консервированной крови причиной для перераспределения различных форм сахара является уменьшение свободного сахара из-за потребления его эритроцитами, что приводит в дальнейшем к уменьшению и связанного сахара, то при хранении плазмы без эритроцитов перераспределение форм сахара обусловлено, вероятно, изменением адсорбционных свойств белков хранившейся сыворотки.

Для окончательного решения вопроса о роли сахара в стабилизации белковых систем плазмы при хранении крови нами была поставлена специальная серия опытов, где плазма хранилась в отдельности от эритроцитов. При этом исключалось влияние обменных процессов в эритроцитах на состояние биокolloидов; по существу эта серия явилась контрольной для всех серий опытов. В этих условиях также отмечалось снижение содержания сахара, особенно в первые дни хранения плазмы, что, возможно, обусловлено наличием лейкоцитов или тромбоцитов. Правда, снижение сахара было менее резко выражено, чем в цельной крови, однако этого, по-видимому, достаточно для перераспределения сахара между свободной и связанной формами в результате чего повышается чувствительность белка к температурному воздействию.

Не исключена возможность, что перераспределение между различными формами сахара может наступить и вследствие того, что хранившийся белок хуже удерживает адсорбционный сахар, а отсюда его меньшая чувствительность. Нам представляется, что перераспределение сахара между связанной и свободной формами может быть обусловлено обоими факторами — уменьшением сахара при гликолизе и изменением белка. При отсутствии эритроцитов — главного потребителя сахара, белковая система оказывается более устойчивой: альбумины и глобулины почти не изменяются, особенно в глюкозо-цитратной плазме, отделенной от эритроцитов, и время застудневания несколько выше, чем во II серии опытов.

Однако наши исследования позволяют выявить некоторое снижение устойчивости белка к температурному воздействию, т. е. качественные изменения. Если в патологии изменение свойств белка является следствием повышения их сорбционных свойств, то при хранении сыворотки *in vitro*, по-видимому, преобладают процессы десорбции.

Следствием повышения десорбционных свойств белка представляется возможным объяснить переход связанной формы сахара в свободную. Благодаря начавшемуся прераспределению сахара понижается стабильность белковой структуры.

Таким образом, приведенные нами данные со всей очевидностью показывают значение влияния уменьшения содержания сахара на состояние коллоидов плазмы.

Также, как и при стабилизации коллоидных систем эритроцитов, глюкоза адсорбируется белковыми молекулами, делая их более устойчивыми к действию различных повреждающих факторов и в частности, к температурному, что подтверждается нашими данными при определении времени застудневания.

В пробах консервированной плазмы с большим содержанием связанного сахара (раствор ЦОЛИПК № 7) была большая устойчивость дефибринированной плазмы к температурному воздействию.

Все это говорит о том, что глюкоза играет роль в обмене, как субстрат питания для красных кровяных клеток, а также стабилизирует белковые структуры плазмы и эритроциты крови путем комплексообразования.

По мере израсходования свободного сахара связанная форма переходит в свободную и используется эритроцитами, о чем свидетельствует уменьшение общего сахара крови при хранении.

Как уже отмечалось, процесс гликолиза развивается в зависимости от действия повреждающего фактора, или в результате нарушения осмотического равновесия между эритроцитами и средой, или вследствие распада белково-липидных комплексов эритроцитов.

Наши исследования показывают, что в процессе хранения имеется нарушение структуры углеводно-белковых комплексов эритроцитов, что, естественно, не может быть индифферентно к состоянию структуры красной кровяной клетки.

Определенную роль в развитии процесса гемолиза, по-видимому, играют изменения свойств белков плазмы.

В цитратной крови, где более резко выражены качественные изменения белков, отмечается снижение фракций альбуминов. Альбумины же имеют существенное значение в поддержании коллоидно-осмотического давления плазмы.

Уменьшение количества альбуминов приводит к снижению коллоидно-осмотического давления плазмы, имеющего существенное значение в поддержании осмотической структуры красной кровяной клетки. Замена плазмы крови длительных

сроков хранения физиологическим раствором вызывает частичный гемолиз эритроцитов (Г. Я. Розенберг, 1954; Д. М. Гроздов, 1964).

Изменением состава плазмы можно до некоторой степени объяснить и развитие процесса гемолиза. Если значительно снижается содержание количества альбуминов в процессе хранения, то, естественно появляются признаки гемолиза. Снижение альбуминов приводит к снижению коллоидно-осмотического давления плазмы. В наших опытах скрытый гемолиз при одних и тех же сроках хранения был тем резче выражен, чем значительнее были изменения в содержании альбуминов.

Таким образом, анализ полученных данных со всей очевидностью показывает, что сахар крови, помимо его роли, как источника питания красной кровяной клетки, играет большое значение в сохранности структуры белковых молекул. Последнее крайне важно для обеспечения нормального течения целого ряда реакций, необходимых для поддержания клетки в физиологически полноценном состоянии.

ВЫВОДЫ

1. Белки плазмы консервированной крови, заготовленной на кислом лимоннокислом натрии, в процессе хранения претерпевают закономерные изменения; с удлинением сроков хранения консервированной крови уменьшается время застудневания (термокоагуляция) и нарастает величина структурной вязкости дефибринированной плазмы, подвергшейся нагреванию. Иными словами, повышается чувствительность белка к тепловому воздействию.

2. Наблюдается определенный параллелизм между повышением чувствительности белка плазмы к температурному воздействию и снижением содержания связанного сахара в крови при хранении.

3. Введение в консервированную кровь глюкозы (в конечной концентрации 250 мг%) не оказывает существенного влияния на величину структурной вязкости плазмы крови до нагревания. Напротив, после нагревания величина структурной вязкости белков консервированной плазмы оказывается более низкой по сравнению с плазмой, не содержащей глюкозы.

4. Увеличение концентрации глюкозы в консервированной крови до 600 мг% (раствор ЦОЛИПК № 7) заметно стабилизирует белковые системы консервированной крови. При этом отмечается не только низкая структурная вязкость после нагревания, но и пониженная чувствительность белков к температурному воздействию.

5. При хранении консервированной крови в связи со снижением комплексообразования сахара с белками в результате гликолиза снижается и стабилизация белков консервированной крови.

6. Введение в консервант глюкозы приводит к увеличению связанного сахара в консервированной крови. Это увеличение количества связанного сахара в крови, заготовленной на глюкозо-цитратном растворе, отмечается в первый день консервации; а в крови, заготовленной на консервирующем растворе ЦОЛИПК № 7, лишь на 7 день консервации. По-видимому имеющиеся в консервирующем растворе ЦОЛИПК № 7 антисептики-сульфацил натрия и риванол сильнее адсорбируются на поверхности белковой молекулы; комплексообразование сахара с белками осуществляется при более продолжительных сроках хранения.

7. Если введение в кровь глюкозы способствует увеличению связанного сахара, то процесс хранения, напротив, способствует снижению связанного сахара. Десорбция сахара более резко выражена в крови, консервированной на кислом лимоннокислом натрии, чем в крови, консервированной на растворе ЦОЛИПК № 7.

8. Факты снижения свободного и связанного сахара в процессе хранения указывают, что сахар, освобожденный из адсорбционной связи с белками, так же утилизируется форменными элементами крови, как и свободный. Это означает, что определение гликолитической активности форменных элементов по нарастанию молочной кислоты будет более правильно отражать этот процесс, чем определение по уменьшению содержания свободного сахара.

9. Введение в консервированную кровь глюкозы оказывает благоприятное действие не только на течение обменных процессов в эритроцитах, но и на стабилизацию белковой системы консервированной крови.

10. Выявляется определенная зависимость между стабильностью белковых систем крови при хранении и развитием гемолиза.

Так, в пробах крови, заготовленной на растворе ЦОЛИПК № 7, при почти неизменной фракции белка имел место очень незначительный скрытый гемолиз. Напротив, в пробах крови, заготовленной на лимоннокислом натрии без глюкозы и с добавками глюкозы (250 мг%), где имелось снижение альбуминовой фракции, скрытый гемолиз был более выражен.

СПИСОК

опубликованных работ по теме диссертации

1. Значение связанного сахара для стабилизации белков консервированной крови. (32 пленум Уч. Сов. ЦОЛИПК. Тез. докл., М., 1954, с. 37—38).

2. Изменение связанного сахара и белков в консервированной крови. (Сборн. научн. труд. Аз.ИПК, вып. 2, 1955, с. 83—93).

3. Изменение углеводно-белкового комплекса в консервированной крови. (33 пленум Уч. совета ЦОЛИПК. Тез. докладов, М., 1959, с. 45—46).

4. Стабилизирующее действие углеводов на белки крови. (III Закавказ. съезд физиологов, биохим. фармакол., 1962, с. 19).

5. Изменение углеводно-белкового комплекса в консервированной крови. Сообщение II. Сборн. науч. тр. Аз.НИИПК, вып. 4—5, 1962, с. 39—41.

6. Стабильность белков крови, консервированной на различных консервантах. Матер. II годов. научн. сессии Аз. ин-та экспер. и клинич. медицины. АМН СССР, 1964, с. 22—24.

Сдано в набор 1/II-1967-г. Подписано к печати 7/II-1967 г. Формат бумаги 60×90. Объем п. л. 1,25. ФГ 12004. Заказ 40. Тираж 200.

Типография АГУ, Баку, Коммунистическая, 6.