

УДК 615.384

Л. І. Алексюк

ПРО ЗМІНИ БІЛКОВОГО СКЛАДУ ПЛАЗМИ КРОВІ ПРИ ВВЕДЕННІ ГЕОСЕНУ В УМОВАХ *IN VITRO* ТА *IN VIVO*

Загальний рівень протеїнів крові та їх якісний склад за нормальних умов досить сталий. Деякі причини (гостра крововтрата, втрата рідини або надмірне введення її в судинне русло, згущення або зрідження крові, тривале захворювання, білкове голодування тощо) можуть викликати різкі коливання рівня протеїнів крові. Для відновлення білкового складу застосовують переливання крові, її компонентів, а також кровозамінників білкової природи.

Введення кровозамінників приводить до деякого зрідження крові, що викликає зміни білкового складу. При цьому кількісний і якісний характер змін складу білків залежить від фізико-хімічних властивостей кровозамінника. Так, колоїдним кровозамінником вуглеводної природи не властиві стимулюючі та білково-поживні функції. Як правило, після введення декстранів при експериментальній або клінічній кровотраті зменшується концентрація білка в плазмі, переважно, його альбумінова фракція, продовжується процес відновлення білків сироватки крові [9, 11, 12, 13, 33].

При введенні білкових і желатинових кровозамінників після значної кровотрати більшість авторів спостерігали швидке відновлення білків [4, 23, 29].

Кровозамінник геосен являє собою колоїд, осмотично активний, містить білок, пептиди та амінокислоти. В експерименті встановлено [3], що парентерально введений геосен на фоні білкового голодування затримується в організмі тварин, вступає в процеси обміну та засвоюється. У висновках з клінічного випробування геосену, які дав Всесоюзний НДІ клінічної та експериментальної хірургії МОЗ СРСР, рекомендовано використовувати геосен з метою зниження білкового дефіциту під час та після операцій у онкологічних хворих.

Ми вивчали зміни в білковому складі крові, що здійснюються при розведенні крові донорів геосеном в умовах *in vitro*; при введенні геосену для поповнення кровотрати після операції та під час операції з штучним кровообігом при перфузії з геосеном. Необхідність таких досліджень викликана тим, що білкові зрушення в крові при переливанні білкового кровозамінника характеризують його з точки зору нешкідливості, білкової сумісності з кров'ю реципієнта.

Методика досліджень

Дослідження білкового складу крові проводили в умовах *in vitro* та *in vivo*. В умовах *in vitro* свіжу гепаринізовану кров донорів розводили геосеном у відношенні 1:6, 1:4, 1:2. Нерозведена кров тих самих донорів служила контролем. Всього проведено 17 дослідів. В умовах *in vivo* 400—600 мл геосену для відновлення кровотрати переливали хворим після операції з приводу мітрального стенозу III—IV стадії. Виконано 21 обслідування. Крім того, 400—1000 мл геосену заливали в апарат штучного кровообігу під час операції з приводу природжених і набутих пороків серця. Проведено 22 до-

слідження. Одержані дані оброблені статистично із застосуванням критерію Стюдента. Зміни наведені в процентах по відношенню до прийнятої за 100% вихідної величини.

Концентрацію загального білка плазми визначали з допомогою поширеного в клінічній практиці, достатньо швидкого і точного методу вимірювання заломлення світла в білкових тілах на рефрактометрі «Zeise». В нормі концентрація загального білка за даною методикою становить 7—8 г%. Для визначення концентрації білкових фракцій застосовували метод сольового осадження з використанням фосфорно-кислих солей [27] в модифікації [8]. Згаданий метод з безпосереднім визначенням кількості білка у кожній фракції у вигляді каламутної суспензії має переваги перед іншими методами розділеного осадження, як за швидкістю використання, так і за якістю одержуваних результатів [6, 8, 10].

Результати досліджень та їх обговорення

Зміни білкового складу крові донорів при розведенні геосеном *in vitro*. Дослідження *in vitro* на відміну від досліджень під час і після операції дозволяють з'ясувати характер взаємодій білкових систем крові людини з білково-колоїдною системою кровозамінника геосену, включаючи при цьому вплив таких факторів, як наркоз, крововтрата, перерозподіл рідини між судинами і тканинами тощо.

Концентрація загального білка в нерозведеній крові коливалась від 7,2 до 7,6 (у середньому $7,3 \pm 0,03$). Як свідчать дані, наведені в табл. 1, при додаванні геосену концентрація загального білка достовірно знизилась відповідно розведенню і становила 96% вихідної величини при розведенні 1 : 6; 90% при розведенні 1 : 4 та 86% при розведенні 1 : 2. Таке зниження концентрації загального білка відбувалось внаслідок гемодилуції кровозамінником з кількістю білка (4—4,5%) нижчою, ніж у плазмі крові. Ми звернули увагу на виражені зміни фракцій альбуміну і глобулінів при додаванні геосену (табл. 1). З підвищенням ступеня розведення крові зменшувалась концентрація альбуміну і збільшувалась концентрація глобулінів, головним чином функція γ -глобулінів. Кількість α -глобулінів незначно зменшувалась, а β -глобулінів майже не змінювалась. До розведення кількість γ -глобулінів була дещо вище норми: $17,7 \pm 0,48$. При розведенні крові 1 : 6 концентрація γ -глобулінів збільшилась на 39% ($p < 0,05$); при розведенні 1 : 4 на 51% ($p < 0,05$) і при розведенні 1 : 2 на 71% ($p < 0,05$). Інтенсивне збільшення γ -глобулі-

Таблиця 1

Зміни складу загального білка та білкових фракцій при розведенні крові донорів геосеном (*in vitro*)

Досліджувані показники	Статистичні показники	Вихідні дані	Ступінь розведення крові		
			1:6	1:4	1:2
Загальний білок плазми (г %)	<i>M</i> $\pm t$	7,3 $\pm 0,03$	7,0 $\pm 0,07^*$	6,6 $\pm 0,05^*$	6,3 $\pm 0,07^*$
Альбумін (%)	<i>M</i> $\pm t$	62,9 $\pm 1,09$	57,7 $\pm 0,83^*$	55,2 $\pm 0,51^*$	51,5 $\pm 1,76^*$
α -глобулін (%)	<i>M</i> $\pm t$	10,2 $\pm 0,58$	8,4 $\pm 0,75$	9,1 $\pm 0,64$	8,6 $\pm 1,00$
β -глобулін (%)	<i>M</i> $\pm t$	9,1 $\pm 0,63$	9,2 $\pm 0,53$	8,8 $\pm 0,59$	9,6 $\pm 0,83$
γ -глобулін (%)	<i>M</i> $\pm t$	17,7 $\pm 0,48$	24,6 $\pm 0,13^*$	26,8 $\pm 1,95^*$	30,2 $\pm 2,07^*$
Альбуміно-глобуліновий коефіцієнт	<i>M</i> $\pm t$	1,7 $\pm 0,06$	1,4 $\pm 0,09$	1,2 $\pm 0,07^*$	1,1 $\pm 0,04^*$

* Відмінності в порівнянні з вихідними даними достовірні ($p < 0,05$).

нової фракції можна пояснити, по-перше, тим, що геосен містить білкові структури, які наближаються за складом і величиною молекули до глобулінової фракції крові; по-друге, внаслідок комплексоутворення білкових фракцій з іншими органічними сполуками, що відбувається поза організмом [13, 19, 28].

Відповідно, за рахунок збільшення глобулінів і зменшення альбуміну, альбуміно-глобуліновий коефіцієнт зменшувався і при найбільшому розведенні становив 65% вихідної величини (табл. 1).

Отже, проведені досліді показали, що введення *in vitro* геосену у великій кількості (розведення 1 : 2 або на 35%) спричиняється до зниження концентрації загального білка та істотно змінює співвідношення білкових фракцій у бік значного збільшення γ -глобулінів і зменшення альбуміну.

Зміни білкового складу крові хворих при розведенні геосеном *in vivo*. В умовах *in vivo* вплив трансфузії геосену на вміст білків крові був незначним, можливо, внаслідок введення невеликої кількості (400—600 мл) кровозамінника, розподілу його по всьому судинному руслу і виходу в тканинну рідину. Результати вивчення білкового складу крові після трансфузії геосену хворим наведені в табл. 2.

Таблиця 2
Зміни складу загального білка і білкових фракцій після трансфузії геосену

Досліджувані показники	Статистичні показники	До трансфузії	Після трансфузії
Загальний білок плазми (г %)	$M \pm m$	$6,7 \pm 0,3$	$6,4 \pm 0,3$
Альбумін (%)	$M \pm m$	$64,1 \pm 1,36$	$59,4 \pm 1,62^*$
α -глобулін (%)	$M \pm m$	$9,3 \pm 0,7$	$10,2 \pm 0,8$
β -глобулін (%)	$M \pm m$	$9,8 \pm 1,41$	$9,7 \pm 1,19$
γ -глобулін (%)	$M \pm m$	$16,6 \pm 0,7$	$20,5 \pm 0,8^*$
* Альбуміно-глобуліновий коефіцієнт	$M \pm m$	$1,8 \pm 0,09$	$1,5 \pm 0,09^*$

* Відмінності в порівнянні з даними до трансфузії достовірні ($p < 0,05$).

Концентрація загального білка після трансфузії геосену здебільшого (60%) знижувалась у середньому на 5,5%. Кількість альбуміну вірогідно зменшилась в середньому на 7%, концентрація γ -глобулінів вірогідно збільшилась на 23%. Зміни фракцій α - та β -глобулінів були незначні і, в цілому, ці показники залишались у межах нормальних величин. Відомо також з літератури, що на внутрішнє введення розчинів сироваткового альбуміну, 6% декстрану, 3% желатину, 6% полівінілпіролідону, фізіологічного розчину, 5% глюкози та ряду інших кровозамінників організм реагує зниженням концентрації альбуміну і підвищенням концентрації глобуліну [16, 30, 36]. Деякі автори пояснюють це тим, що в певних умовах можливе внутрісудинне перетворення білкових фракцій під час виконання ними транспортної функції [1, 7, 18—21].

Отже, беручи до уваги, що геосен являє собою білковий колоїд тваринного походження, тобто біологічно активну рідину, можна припустити, що зміни білкової формули плазми в наших дослідіх при трансфузії геосену відбувались внаслідок взаємодії білків крові реципієнта з білками кровозамінника.

Під час перфузії з геосеном кількість загального білка крові змінювалась у тому ж напрямку, як і в умовах *in vitro* та після трансфузії. Відповідно даним, наведеним у табл. 3, вміст загального білка до перфузії становив $7,3 \pm 0,02$. Початок перфузії супроводжувався зниженням концентрації білка на 10% ($6,6 \pm 0,10$, $p > 0,05$). Після закінчення перфузії вміст загального білка зменшився до $6,3 \pm 0,10$ ($p < 0,05$). Надалі концентрація його збільшилась і через 2 год після операції становила 93% вихідної величини. Така концентрація білка зберігалась до третьої доби, а на сьому і чотирнадцяту доби була близька до вихідної величини ($7,1 \pm 0,06$). Закономірне зменшення концентрації білка під час перфузії відзначають багато авторів [5, 17, 22] і пояснюють це ефектом гемодилуції. Крім того, під час операції з штучним кровообігом збільшується крововтрата, а також проникність судинних стінок і частина білка виходить з циркуляції. Проте, швидке відновлення білка через 2 год і в першу добу після операції свідчить про білково-відновні властивості геосену. Цей факт збігається з даними літератури щодо білкових та желатинових кровозамінників [4, 5, 23, 25].

Таблиця 3

Зміни загального білка і білкових фракцій в плазмі крові під час та після операції з штучним кровообігом при застосуванні геосену в складі перфузату

Досліджувані показники	Статистичні показники	Початок		Кінець перфузії	Через 1 год після операції	Доби після операції			
		операції	перфузії			1	3	7	14
Загальний білок плазми (г %)	<i>M</i>	7,3	6,6	6,3	6,8	6,9	6,8	7,0	7,1
	$\pm t$	$\pm 0,02$	$\pm 0,10^*$	$\pm 0,12^*$	$\pm 0,05$	$\pm 0,04$	$\pm 0,05$	$\pm 0,05$	$\pm 0,06$
Альбумін (%)	<i>M</i>	61,3	59,9	58,3	62,0	63,6	61,8	56,1	53,0
	$\pm t$	$\pm 1,7$	$\pm 1,3$	$\pm 1,5^*$	$\pm 1,3$	$\pm 1,7$	$\pm 1,1$	$\pm 1,0$	$\pm 1,0$
α -глобулін (%)	<i>M</i>	8,7	9,4	8,7	7,7	8,6	10,5	11,9	10,2
	$\pm t$	$\pm 0,5$	$\pm 0,5$	$\pm 0,7$	$\pm 0,7$	$\pm 0,5$	$\pm 0,5$	$\pm 0,7$	$\pm 0,7$
β -глобулін (%)	<i>M</i>	10,7	12,0	12,4	10,5	10,9	11,4	12,4	12,8
	$\pm t$	$\pm 0,5$	$\pm 0,4$	$\pm 0,7$	$\pm 0,7$	$\pm 0,4$	$\pm 0,7$	$\pm 0,6$	$\pm 0,7$
γ -глобулін (%)	<i>M</i>	21,5	18,9	21,7	19,3	16,6	16,4	19,0	22,6
	$\pm t$	$\pm 2,4$	$\pm 0,8$	$\pm 1,8$	$\pm 0,7$	$\pm 0,7$	$\pm 0,9$	$\pm 0,7$	$\pm 1,0$

* Відмінності в порівнянні з даними на початку операції достовірні ($p < 0,05$).

При аналізі змін білкових фракцій необхідно враховувати, що досліджували кров хворих з тривалою хронічною серцевою недостатністю, з різко вираженими застійними явищами в печінці. Для таких хворих характерна виражена гіпоальбумінемія і гіперглобулінемія, як наслідок запального процесу (ендокардиту) та порушення функції печінки [14, 15, 35]. Отже, вихідна концентрація альбуміну в наших дослідах перебувала на рівні нижньої границі норми: $61,3 \pm 1,7$. Під час перфузії відзначалось незначне (на 3%; $p > 0,05$) зниження кількості альбуміну. Через 2 год після операції та в першу і третю доби концентрація альбуміну відновлювалась. Однак, на 7 і 14 доби спостерігалось зменшення вмісту альбуміну приблизно на 10%. Мало ймовірно, що це відбувалось під впливом геосену. Як ми повідомляли раніше [2], геосен затримується в судинному руслі три доби. Отже, на 7 і 14 доби вміст альбуміну скоріше залежить від регулюючої функції печінки, яка в свою чергу пов'язана із змінами об'єму плазми і колоїдноосмотичного тиску [16].

Загальна кількість глобулінів до перфузії перевищувала нормальний рівень за рахунок високої концентрації γ -глобулінової фракції

[21,5±2,4]. На початку перфузії у складі глобулінових фракцій спостерігалось збільшення концентрації α - і β -глобулінів на 8—12% і зменшення γ -глобулінів на 12%. Можливо, такі зміни відбуваються внаслідок трансформації альбуміну і γ -глобуліну в α - і β -глобуліни [19, 32]. Наприкінці перфузії кількість α - і γ -глобулінів не відрізнялась від вихідних значень, вміст β -глобулінів перевищував вихідний рівень на 16%. Через 2 год і в першу добу кількість α - і β -глобулінів дорівнювала вихідним показникам. Кількість γ -глобулінів через 2 год після перфузії була нижче вихідної величини на 25% і залишалась такою ж до третьої доби. Через сім діб спостерігалось підвищення концентрації γ -глобулінів, а на 14 добу відновлення до вихідної величини. В цей період кількість α - і β -глобулінів була вище вихідної.

Отже, попереднє вивчення змін білка плазми в умовах *in vitro* показало, що навіть при значному розведенні крові геосеном [1 : 2] концентрація загального білка була не нижче $6,3 \pm 0,07$ г%. Відомо, що рівень білка, при якому настає загроза набряку тканин та згущення крові, становить приблизно 5,5 г% [16, 17, 26]. Зважаючи на це, геосен застосували спочатку у невеликій кількості для трансфузії хворим з метою відновлення крововтрати. При цьому загальний білок плазми знижувався відповідно розведенню 1 : 4 *in vitro*. Надалі геосен застосовували як гемодилуант в умовах штучного кровообігу. Під час перфузії зниження концентрації загального білка було таким самим, як і при розведенні крові 1 : 2 *in vitro* ($6,3 \pm 0,12$).

Отже, на підставі одержаних даних, можна зробити загальний висновок, що геосен, завдяки білковій природі має деякі білково-відновні властивості, сприяє збереженню оптимального рівня білка і може застосовуватись як гемодилуант під час операцій із штучним кровообігом та для відновлення крововтрати.

Література

1. Алексеева И. Н. Сравнительное изучение влияния трансфузии белкового кровезаменителя (БК-8), гетерогенной и изогенной сывороток на белки сыворотки крови в организме. Автореф. дис. канд. Киев, 1963, 18 с.
2. Бризгіна Т. М., Алексюк Л. І. Про строки циркуляції в судинному руслі і виведення з організму кровозамінника геосену.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1975, 21, № 2, с. 195—200.
3. Бризгіна Т. М. Вивчення біологічної цінності кровозамінника геосену.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1977, 23, № 2, с. 241—246.
4. Богомолова Л. Г., Знаменская Т. В. О лечебной эффективности нового коллоидного плазмозамещающего раствора из желатина.— Пробл. гематол. и переливания крови, 1962, № 4, с. 32—37.
5. Бураковский В. И. и др. Искусственное кровообращение в условиях гемодилюции реополиглюкином и желатинолом.— Грудная хирургия, 1971, № 5, с. 6—12.
6. Голиков Ю. И. Определение белковых фракций сыворотки крови экспресс-методом.— Лаб. дело, 1969, № 11, с. 6—14.
7. Капланский С. Я. О некоторых функциях белков сыворотки крови.— Терапевт. архив, 1962, 34, № 2, с. 3—12.
8. Карлюк С. А. Определение белковых фракций сыворотки крови экспресс-методом.— Лаб. дело, 1962, № 7, с. 33—36.
9. Кацнельсон З. М., Десямура И. Д. Изменения в общем количестве белка и его фракций при внутривенном введении крови и некоторых кровезаменителей.— В кн.: Труды Крымского медицинского института, 1958, 20, с. 478—482.
10. Кечек Ю. А. Новые фотометрические методы определения количества белка и его фракций в биологических жидкостях и тканевых экстрактах.— Автореф. докт. дис., Ереван, 1968. 33 с.
11. Козинер В. Б. Восстановление коллоидно-осмотического давления, объема крови и белков сыворотки после кровопотери и вливания полиглюкина.— Патол. физиол. и экспер. терапия, 1961, 5, № 3, с. 54—59.
12. Козинер В. Б., Папуш Н. Д. Белковые фракции плазмы после замещения кровопотери полиглюкином.— Пробл. гематол. и переливания крови, 1964, № 2, с. 37—43.

13. Мелик-Саркисян М. М., Розенфельд Е. Л. О влиянии декстрана на белки плазмы крови.— Биохимия, 1957, 22, № 4, с. 730—735.
14. Ойвин И. А., Басок М. Я., Ойвин В. И. Значение электрофоретических исследований белков сыворотки крови для клиники внутренних болезней.— Клинич. медицина, 1951, № 4, с. 52—58.
15. Ойвин И. А., Ойвин В. И., Смоличев Е. П. Нарушения белкового состава крови.— В кн.: Материалы по патологии белков крови и нарушению сосудистой проницаемости. Душанбе, 1959, вып. 4, с. 5—27.
16. Смоличев Е. П. Нарушения белкового состава крови. Изд. АН Тадж. ССР, 1965. 243 с.
17. Соловьев Г. М., Радзивил Г. Г. Кровопотеря и регуляция кровообращения в хирургии, М., «Медицина», 1973. 335 с.
18. Соркина Д. А. Восстановление содержания белков крови после кровопотери при экспериментальном нефрите.— Патол. физиол. и exper. терапия, 1963, № 5, с. 49—52.
19. Троцкий Г. В., Окулов В. И., Соркина Д. А. О возможности трансформации альбумина и γ -глобулина плазмы крови в α - и β -глобулины.— Биохимия, 1961, 26, № 1, с. 44—56.
20. Троцкий Г. В., Тарасова Л. С. О влиянии веществ, увеличивающих в крови количество α - и β -глобулинов, на развитие алиментарной гиперхолестеринемии и атеросклероза.— Вопросы мед. химии, 1956, 2, № 6, с. 428—436.
21. Трофимова Г. М. Белковые фракции сыворотки крови при ревматических и инфекционных неспецифических полиартритах.— Клинич. медицина, 1958, № 5, с. 79—83.
22. Филатов А. Н., Балюзек Ф. В. Управляемая гемодилюция. М., «Медицина», 1972. 206 с.
23. Хлебникова И. Н., Знаменская Т. В. О влиянии плазмозамещающего раствора желатиноль на функцию печени.— Пробл. гематол. и переливания крови, 1965, № 8, с. 50—53.
24. Яцентюк Н. Н. Некоторые предварительные данные клинического испытания белкового кровезаменителя БК-8.— Новый хирургич. архив, 1960, № 2, с. 64—68.
25. Яцентюк Н. Н. Применение белкового кровезаменителя БК-8 у раковых больных.— Вопросы гематол., переливания крови и кровезаменителей, Киев, 1961, № 3, с. 107—109.
26. Штрауб Ф. Б. Биохимия. Будапешт, Изд. АН Венгрии, 1963. 716 с.
27. Aull I. C., McCord W. M. Цит. за [8].
28. Charlwood P. A., Gordon A. H. Electrophoresis in a density gradient.— Biochem. J. (London), 1958, 70, N 3, p. 433—438.
29. Feigen G. A., Campbell J. M., Sutherland G. B., Marcus G. Simultaneous estimation of serum proteins and oxypolygelatin by phenol, nitrogen ratio.— J. Appl. Physiol., 1954, 7, N 2, p. 154—160.
30. Gitlin D., Geneway C. A., Putman F. W. The plasma proteins. New York a London, 1960, 407 p.
31. Jaenike I. R., Schreiner B. F., Waterhouse C. The relative volumes of distribution of J^{131} -tagged albumin and high molecular weight dextran in normal subjects and patients with heart disease.— J. Lab. and Clin. Med., 1957, 49, N 2, p. 172—181.
32. Нейпар Г., Бейли Г. Белки, М., 1954, 3, ч. 1. 376 с.
33. Rieger A. Bloom volum and plasma protein. 3. Changes in blood volum and plasma proteins after bleeding and immediate substitution with Makrodex, Rheomakrodes and Physiologe in the splenecromized dog.— Acta chir. scand., 1967, 133, Suppl. № 379, p. 22.
34. Ross R. S., Walker W. G., Hammond J. D. Distribution and transcapillary exchange of albumin in congestive heart failure.— Circulat. Res., 1960, N 8, p. 1041—1053.
35. Szabo G., Magyar L., Zoltan O. T. On the effect of venous stasis and hypoproteinemia on transcapillary albumin exchange.— Acta med. Acad. scient hung., 1962, 18, N 2, p. 219—226.
36. Theile H., Theile L. On the effected of colloidal blood substitutes on blood proteins and blood sedimentation.— Blut, 1962, 8, N 4, S. 217—228.
37. Walker W. G., Ross R. S., Hammond I. D. Study of the relationship between plasma volume and transcapillary protein exchange using J^{131} labeled albumin and J^{125} labeled globulin.— Circulat. Res., 1960, N 8, p. 1028—1039.

Відділ імунології та цитотоксичних сироваток
Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
4.IV 1977 р.