

TADEUSZ DOROBISZ, MARIA CHRZANOWSKA, STANISŁAW PRZESTALSKI,
KLEMENS SKORA

PRZENIKANIE RADIOFOSFORU P^{32} DO KRWINEK CZERWONYCH W RÓŻNYCH OKRESACH KONSERWOWANIA

Z I Kliniki Chirurgicznej AM we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr K. Czyżewski

Z Katedry Fizyki WSR we Wrocławiu

Kierownik: z-ca prof. dr S. Przystański

Podstawowym założeniem konserwowania krwi jest stworzenie takich warunków, aby jej właściwości biochemiczne możliwie długo były zachowane i zapewniony był prawidłowy przebieg przemiany materii. Warunki te zapewniono przez przechowywanie krwi w chłodzie, dodawanie do płynu konserwującego glikozy oraz środków przeciwkrzepięciowych.

Przeniesienie żywej krwi z ustroju do najlepszych nawet warunków konserwowania nie uchroni jej przed postępującymi zmianami wstecznymi. Przebieg procesów życiowych krwinek konserwowanych prowadzi do nadmiernego gromadzenia się końcowych związków przemiany materii, gdyż w tych warunkach nie mogą one być wydalone na zewnątrz środowiska, jak to ma miejsce *in vivo*. Krwinki czerwone mają uproszczony metabolizm, ograniczający się do rozkładu glikozy w procesie fosforolitycznym, w przebiegu którego glikoza rozpada się do kwasu mlekowego [11]. W miarę czasu konserwowania krwi z osocza ubywa glikoza, natomiast podwyższa się ilość kwasu mlekowego. Równoległe z procesem ubytku glikozy wzrasta przyrost fosforu nieorganicznego w krwinkach, ponieważ dyfuzja do osocza ortofosforanów, wytworzonych z rozpadu związków organicznych, jest powolna [4].

Wzrost poziomu fosforu w krwince w miarę wpływu czasu konserwacji został stwierdzony przy pomocy metod chemicznych [9]. Celem naszej pracy było potwierdzenie tego zjawiska przy użyciu metody izotopowej. Wyszliśmy z założenia, że równoległe ze starzeniem się krwinek czerwonych i wzrostem poziomu fosforu nieorganicznego w krwinkach, winna się zmniejszać zdolność przenikania radiofosforu P^{32} z osocza do krwinek. Nie braliśmy pod uwagę innych czynników wpływających na przenikanie P^{32} do krwinek takich jak temperatura [1] czy stężenie jonów wodor-

wych [7], zachowując w naszych doświadczeniach jednakowe ich wartości. W poprzednich pracach [1, 3] ustaliliśmy własną metodykę badań izotopowych nad przenikaniem P^{32} do krwinek czerwonych w zależności od stężenia podawanego izotopu. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdziliśmy, że stosunek pomiędzy stężeniem podawanego do krwi radiofosforu a ilością, która przeniknęła do czerwonych ciałek krwi jest stały i niezależny w pewnych granicach od stężenia radiofosforu. Zdolność przechodzenia radiofosforu przez otoczkę krwinek nie jest jedynie zjawiskiem zwykłej dyfuzji. Wydaje się, że proces ten jest wynikiem przemian biologicznych, przebiegających w samych krwinkach. Przypuszczenie to potwierdzają wyniki szeregu doniesień. Stwierdzono różnice w przenikaniu P^{32} do krwinek czerwonych w różnych stadiach gruźlicy płuc [10]. Przez dodawanie do krwi konserwowanej adenozyiny i inozyiny uzyskiwano zwiększanie się ilości P^{32} w krwinkach w porównaniu z grupą kontrolną [5, 6].

Krwinki czerwone inkubowane w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$ z domieszką izotopu zawierają jedynie śladowe jego ilości, podczas gdy w miarę wzrostu ciepłoty ilość przyswojonego P^{32} zwiększa się do pewnej granicy. Spostrzeżenie to wyraźnie wskazuje na współzależność przenikania P^{32} przez otoczkę erytrocytów od intensywności ich przemiany materii.

Ponieważ rozpad glikolityczny przebiega poprzez związki pośrednie, które są estrami fosforowymi, uzasadnione jest zastosowanie radiofosforu P^{32} do badania przemiany materii krwinek krwi konserwowanej.

METODYKA

Do badań użyliśmy krwi konserwowanej ze Stacji Krwiodawstwa we Wrocławiu. Konserwowaną krew uzyskaną od jednego dawcy dzieliliśmy na 5 porcji, przechowując je w osobnych butelkach. Badania przeprowadzaliśmy w dniu pobrania krwi, a następnie w odstępach jednodobnych przez okres 4 tygodni.

W ten sposób ta sama krew była badana pięciokrotnie w okresie czterotygodniowego przechowywania. Krew konserwowaną pobierano z butelki w 2 ml dawkach, które zadawano roztworem izotopu P^{32} w związku chemicznym Na_2HPO_4 rozpuszczonym w roztworze fizjologicznym soli (0,9% roztwór NaCl). Ilość roztworu zawierającego izotop była stale jednakowa, wynosiła 1 ml i posiadała aktywność w granicach od 0,1 do 0,5 μC P^{32} . Po dokładnym wymieszaniu próbki krwi z roztworem izotopu, określano dla każdej próbki ilość impulsów na minutę w 1 ml roztworu przy pomocy licznika GM i dwudekadowych przeliczników elektronowych. Następnie próbki krwi umieszczano w łaźni wodnej o temperaturze 37°C na przeciąg 2 godzin. Po tym czasie kręw wirowano przez okres 15 minut na wirówce przy 3 tys. obrotów na minutę. Po odwirowaniu krwi oddzielano 1 ml osocza, w którym określano ilość impulsów na minutę.

Miarą zdolności gromadzenia się fosforu w krwinkach jest stosunek radioaktywności osocza do radioaktywności krwi pełnej, co można ująć w prostym wzorze

$I = N_p/N_k$, gdzie I oznacza wspomniany wyżej stosunek nazwany względną aktywnością jednostkową osocza, wyrażony w odsetkach; N_p wyraża aktywność — 1 ml osocza w imp/min.; N_k odpowiada aktywności 1 ml krwi pełnej w imp/min.

WYNIKI

Wartości uzyskane z powyższego wyliczenia dawały procentową ilość P³² znajdującego się w osoczu. Wartości te z poszczególnych próbek (od Nr 1 do Nr 12) w okresie 4 tygodni badania są zebrane w tab. 1.

Tabela 1. Procentowa ilość P³² w osoczuTable 1. Percentage of P³² in the plasma

Nr kolejnych próbek krwi 1)	Czas konserwacji w tygodniach 2)				
	0	1	2	3	4
1	29,0	32,1	48,7	82,2	87,2
2	28,4	39,3	46,6	68,3	83,3
3	29,1	30,4	32,2	60,1	77,0
4	30,5	40,9	38,9	63,4	78,0
5	27,2	30,0	42,7	62,1	75,5
6	28,1	38,9	41,0	60,7	78,4
7	28,0	29,9	45,5	63,0	81,0
8	29,4	38,8	42,7	60,6	82,3
9	30,1	40,0	43,2	70,0	82,9
10	28,4	34,1	44,7	73,7	81,8
11	27,9	35,6	40,1	60,7	83,1
12	29,3	29,8	—	70,3	84,3
Wartości przeciętne 3)	28,8	35,0	42,2	66,3	81,2

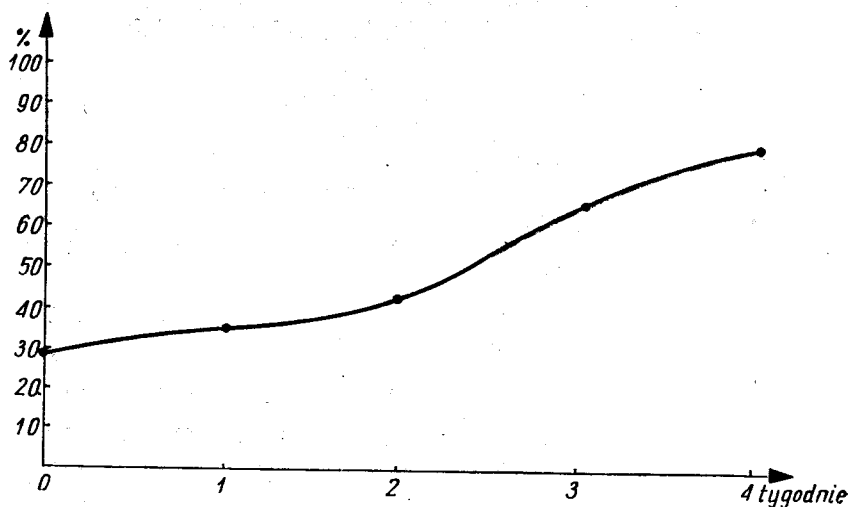
No. of consecutive blood samples 1); time of preservation, in weeks 2); Averages 3).

Przyjęliśmy w sposób uproszczony, że będziemy uważać procentowy ubytek P³² z osocza w poszczególnych próbkach, jako jego ilość, która przeniknęła do krwinek czerwonych. Ścisłe obliczenie ilości P³², przenikającej z osocza do krwinek wymagało określenia w każdej próbce krwi stosunku objętościowego krwinek do osocza. Badania te, jako nieistotne w sposób znamieny dla naszych doświadczeń pominieliśmy, ponieważ krew była pobierana od ludzi zdrowych, u których stosunki objętościowe

osocza i krwinek nie były zaburzone i pozostawały w przybliżeniu jednokowe dla wszystkich próbek.

W ten sposób zwiększanie się ilości P^{32} przedstawione w naszej tabeli i na wykresie oznacza odwrotnie proporcjonalne zmniejszanie się ilości radiofosforu przenikającego do krwinek.

Na wykresie przedstawiamy obliczone procentowo, graficznie ujęte wartości przeciętne izotopu P^{32} w osoczu, w okresie przechowywania krwi.



Ryc. 1. Procentowa zawartość P^{32} w osoczu w zależności od czasu konserwowania krwi.

Fig. 1. Percentage of P^{32} in the plasma in relation to time of blood preservation.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Jak wynika z przedstawionej tabeli i wykresu ilość radioaktywnego fosforu przenikającego do krwinek stale maleje w miarę upływu czasu przechowywania krwi. W dniu pobrania krwi przeciętna wartość P^{32} w osoczu wynosiła 29,0%, zaś wartość końcowa, po czterech tygodniach konserwacji wzrosła do 87,2% ilości izotopu podanego do krwi pełnej. Odwrotnie proporcjonalnie zachowywała się oczywiście ilość izotopu jaka przeniknęła do krwinek. Spadek ilości radiofosforu wnikałego do krwinek w miarę upływu czasu, nie jest równomierny. Najmniejszy wzrost krzywej ilości P^{32} w osoczu obserwujemy w pierwszym tygodniu przechowywania krwi, zaś największy w trzecim tygodniu. Jak wiemy z licznych badań przeprowadzonych innymi metodami, stężenie organicznych połączeń fosforowych w krwince konserwowanej zmniejsza się. Zwiększa się natomiast ilość związków nieorganicznych i to w stosunku odwrotnie proporcjonalnym do zmniejszania się zdolności życiowej krwinek [2, 8].

Nasze badania przy użyciu metody izotopowej w pełni potwierdzają powyższe zjawiska.

WNIOSKI

1. Zdolność przenikania aktywnego radiofosforu P^{32} do krwinek czerwonych krwi konserwowanej maleje w miarę upływu czasu przechowywania krwi.

2. Użyta metoda określania zdolności przenikania P^{32} do krwinek czerwonych może znaleźć zastosowanie praktyczne dla oznaczania nieznanego czasu przechowywania krwi konserwowanej, jak również przy badaniu potencjału żywotności krwinek w warunkach różnych metod ich konserwowania.

T. Доробис, М. Хшановска, С. Пшестальски, К. Скура

ПРОНИКАНИЕ РАДИОФОСФОРА P^{32} В ЭРИТРОЦИТЫ В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ КОНСЕРВИРОВАНИЯ

T. Dorobisz, M. Chrzanowska, S. Przystalski, K. Skóra

PENETRATION OF RADIOACTIVE PHOSPHORUS P^{32} INTO RED CELLS AT VARIOUS PERIODS OF PRESERVATION

PIŚMIENNICTWO

1. Bernadzikowski J., Przystalski S., Raginia R., Skóra K.: w druku. Zeszyty Naukowe WSR, Wrocław, 1960.
2. Dohrmann R.: Ergebnisse der Bluttransfusionsforschung. IV. S. Karger, Basel-New York, 1959.
3. Dorobisz T., Bors J., Przystalski S., Skóra K.: Zeszyty Naukowe WSR, Wrocław, 1961, 40, 45.
4. Hausman A.: Konserwowanie i przetaczanie krwi PZWL, Warszawa, 1954.
5. Kahn J. B.: J. Pharm. Exp. Therap. 1957, 120, 239.
6. Pranker T. A. J.: Biochem. J. 1956, 64, 209.
7. Radotić M., Ninkow V.: Bull. Inst. of Nucl. Sci. „Boris Kidryć”, Belgrad, 1959, 9, 190, 199.
8. Rasch L. H.: Ergebnisse der Bluttransfusionsforschung. S. Karger, Basel-New York, 1959.
9. Stolzman Z., Magas S., Pietz M., Przewoźniak T., Zubrzycki Z.: Niektóre zmiany chemiczne krwi konserwowanej. Badania w zakresie konserwacji i przetaczania krwi. Poznań, Nakł. Pozn. Tow. Przyj. Nauk, 1954.
10. Syczewa I. M.: Klin. Med., 1959, 4, 43.
11. Władymirow G. E., Patyszenko I. A., Uryson A. P.: Fizjol. Żurn. SSSR 1947, 33, 3, 582.

Otrzymano: 7. 2. 1961.

Adres autorów: I Klinika Chirurgiczna AM we Wrocławiu, ul. Poniałowskiego 2.