

W CZASIE KONSERWAGJI KRWI ODCZYNY BIAŁKOWE

Z III Kliniki Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Poznaniu
Kierownik: prof. dr *F. Łabendziński*

Zmiany białek w czasie przechowywania i konserwacji krwi oraz osocza były badane już wielokrotnie różnymi metodami z elektroforezą na czele. Większość autorów nie znajdowała zasadniczych zmian oprócz nieznacznych odchyłeń w ramach poszczególnych frakcji. (*Scudder* — 1940, *Tagnon* i *Cohn* — 1944, *Auerswald* i *Wenzl* — 1950, *Lang*, *Fenen* i *Cramer* — 1951, *Roguski* i współpracownicy — 1951, *Zakrzewski* i *Malec* — 1953 r.).

Scudder badał elektroforetycznie białka płynnego i suchego osocza i stwierdził nieznaczny spadek albumin z przyrostem globulin. W przypadku przechowywania w niskiej temperaturze zaznaczał się znaczniejszy wzrost β globulin, w temperaturze pokojowej i zwiększenie się ilości β globulin.

Auerswald i *Wenzl* badali metodą elektroforezy białka osocza krwi konserwowanej świeżej oraz po dwóch i czterech tygodniach. Uchwytanych zmian nie stwierdzili.

Białka płynnego osocza oznaczone elektroforetycznie przez *Langa*, *Fenena* i *Cramera* nie różniły się po 5—6 latach przechowywania w temperaturze pokojowej od białka świeżego osocza osób zdrowych.

Roguski ze współpracownikami posługiwali się metodą wysalania i refraktometryczną oraz sposobem *Philipsa* i *van Slyka*. Wszystkie badania wykazały brak zmian poziomu białek w czasie konserwacji krwi metodą radziecką.

Z innych badań wspomnieć należy prace *Fischbecka* i *Langego*, którzy badając lepkość surowicy przechowywanej przez okres jednego roku znaleźli jedynie różnicę nie przekraczającą 2% wartości wyjściowej.

Odosobnieni w swoich poglądach są m. in. *Knoll* i *Wolff*, którzy znajdowali znaczne zmiany w białkach krwi w czasie konserwacji.

Knoll (1939) oznaczał bezwzględnie ilość białka, stosunek albumin do globulin oraz lepkość. Po jednotygodniowym przechowywaniu znajdował następujące wartości. Krew cytrynianowa: białka 6,9 g%, A : G = 60 : 40, lepkość 1,64. Krew glukozocytrynianowa: białka 8,19 g%, A : G = 60 : 40, lepkość 1,76.

Po trzech tygodniach przechowywania krwi cytrynianowej spostrzegał znaczne zmiany: białka około 13,9 g%, A : G = 20 : 80, lepkość 2,82. W serii badań krwi glukozocytrynianowej odpowiednie wartości przedstawiają się po dwóch tygodniach następująco: białka 9,14 g%, A : G = 55:45, lepkość 1,96. Obserwowane zmiany próbuje *Knoll* wytłumaczyć przebywaniem w osoczu globulin z rozpadających się czerwonych krwinek.

Wolff (1941) również stwierdził w czasie przechowywania krwi wzrost globulin, doprowadzający do odwrócenia stosunku albuminy : globuliny.

O zmianach zachodzących w białkach świadczą także prace *Mutrzenbechera* (1936), który posługując się metodą ultrawirówki znajdował w starej końskiej surowicy albuminy o ciężarze cząsteczkowym stanowiącym połowę prawidłowej cząsteczki.

Podobnie *Roche* i *Bracco* (1934) w surowicy przechowywanej w ciągu dwóch miesięcy w lodówce spostrzegali globuliny o ciężarach cząsteczkowych poniżej normy.

Pewien wgląd na gospodarke białkową krwi konserwowanej i przechowywanej dają nam prace zajmujące się badaniem czynnościowym niektórych białek, np. przeciwciał lub protombiny.

Izoaglutyniny i immunoaglutyniny przechowywane nawet do dwóch lat wg większości autorów zachowują lub nieznacznie zmniejszają swoje miano (*Wittuckij*, 1932; *Mstibowski*, 1939; *Willenegger* i *Ottensoser*, 1940; *Kopplow*, 1943 i inni).

Stwierdzone przez wielu autorów obniżenie czasu protrombinowego, dochodzące po 3 tygodniach konserwacji do 50% ilości wyjściowej, stanowi zagadnienie nadal nie wyjaśnione.

Wychodząc z założenia, że metody stosowane przez autorów pracujących nad białkami krwi konserwowanej (wysalanie, refraktometria, ultrawirówka, elektroforeza itp.), aczkolwiek niektóre z nich bardzo dokładne, nie określają wszystkich zmian białka — nie charakteryzują więc m. in. budowy cząsteczki jej składu aminokwasów czy innych nieznanych nam jeszcze cech jakościowo-ilościowych, postanowiłem stwierdzić, w celu uzupełnienia innych badań, jak zachowują się odczyny białkowe w czasie konserwacji krwi.

Za koniecznością uzupełnienia elektroforezy i innych badań za pomocą odczynów białkowych świadczyć może prosty przykład wstęgi *Weltmanna*, która przy zwiększaniu ilości 6 globulin, wędrujących w polu elektrycznym z jednakową szybkością, może ulegać skróceniu w przypadku zmian zapalno-martwiczych lub przedłużeniu np. w zmianach miąższowych wątroby. Podobnie metodą ultrawirówki czy ultrafioletabsorpcji znajduje się różnice w elektroforetycznie wyodrębnionych 6 globulinach (*Wuhrmann*, *Wunderly* i *de Nicola*, 1950).

Również *Bubb* i *Pedrazzini* (1949) wykazali za pomocą odczynów białkowych zmiany jakościowe białek po spożyciu posiłku, nie stwierdzone jednocześnie wykonywanym badaniem elektroforetycznym.

Z prób białkowych w czasie konserwacji krwi badano dotychczas jedynie zachowanie się odczynu *Biernackiego*.

Wyniki wszystkich autorów zajmujących się tym zagadnieniem są zgodne. *Itey* (1927), *Gnoiński* (1938), *Macdonald* i *Stephen* (1939), *Jeaneney* (1940), *Bartz* i współpracownicy (1951) i inni znajdowali już w pierwszych dniach przechowywania lub konserwacji zmniejszenie szybkości opadania czerwonych krwinek. Po około trzech tygodniach występowało prawie całkowite zahamowanie opadania. Tłumaczono to zwiększeniem lepkości krwi (*Schürch*), zwiększeniem ujemnego ładunku czerwonych krwinek (*Bartz* i *Fidelski*) lub oddziaływaniem rywanolu, zawartego w radzieckim płynie konserwującym.

BADANIA WŁASNE

Ogółem przebadano 21 prób krwi następnego dnia po pobraniu oraz 18 po mniej więcej trzytygodniowym okresie konserwacji. Krew przygoto-

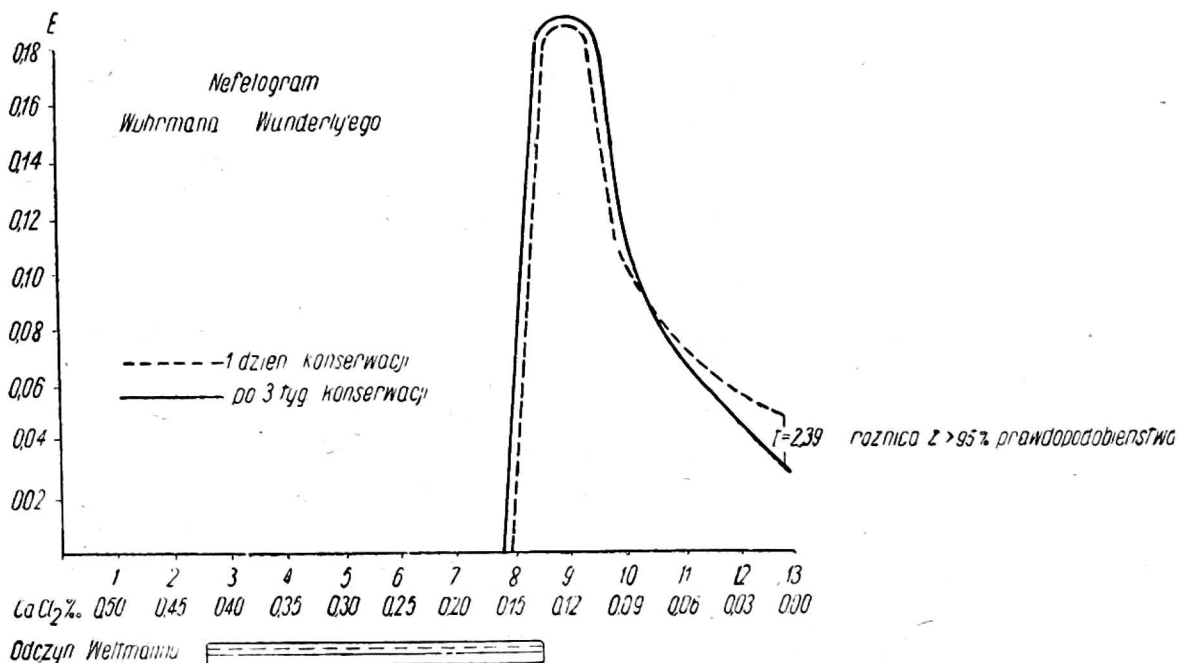
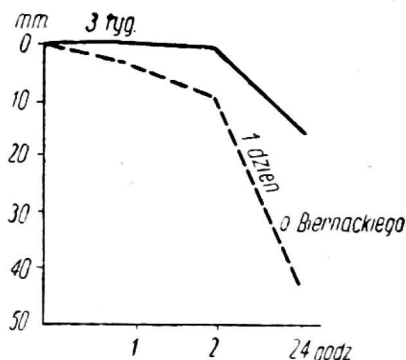
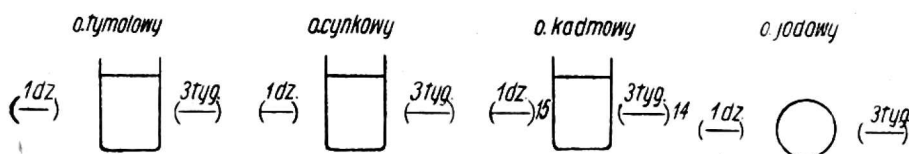
wywała Poznańska Stacja Krwiodawstwa metodą radziecką (recepta nr 7 Centralnego Instytutu do Przetaczania Krwi w Moskwie).

W większości przypadków postępowano następująco: dzień po pobraniu dwóch ampulek krwi od dawcy, jedną z nich po przebadaniu przetaczano. Tymczasem druga ampulka przechowywana była w chłodni Stacji Krwiodawstwa i po około trzech tygodniach przewożona do Kliniki. W niektórych przypadkach krew badana po trzech tygodniach nie była przebadana w pierwszym dniu po pobraniu i odwrotnie (dokładne dane w tabeli II).

Każdorazowo wykonywano ogólnie znanymi sposobami następujący zespół odczynów białkowych: odczyn Biernackiego, odczyn tymolowy Maclagena, cynkowy Kunkela, jodowy Mallena, kadmowy Wuhrmanna-Wunderly'ego, Weltmanna oraz nefelogram Wuhrmanna-Wunderly'ego. Oprócz tego oznaczono białko ilościowo za pomocą refraktometru.

Odczyny: tymolowy, cynkowy, kadmowy i jodowy wypadają ujemnie i nie ulegają zmianie w czasie konserwacji (ryc. 1).

Odczyny białkowe w czasie konserwacji krwi



Ryc. 1

Odczyn Weltmanna wykazuje pierwszego dnia konserwacji nieznaczny zwrot w prawo — skłaczowanie średnie do 8 —próbówki (0,15% CaCl₂). Wartości te nie ulegają zmianie po trzech tygodniach.

W nefelogramie Wuhrmanna-Wunderly'ego oznaczonym na spektrofotometrze Colemana nie stwierdza się po trzech tygodniach zmian w dyspersji białek, czego dowodem jest identyczna wysokość nefelogramu wykreślonego na podstawie średnich wartości (ryc. 1, tabela I i II). Natomiast próbówka nr 13 z wodą podwójnie destylowaną, używaną w naszej Klinice jako odczyn wodny, wykazuje zmiany, polegające na zwiększeniu

T a b e l a I

Odczyn Biernackiego i Weltmanna oraz nefelogram Wuhrmanna-Wunderly'ego w pierwszym dniu konserwacji krwi

Lp.	Nr am-pułki	Białko su-rowicy g ⁰ / ₀	Odczyn Biernackiego			Odczyn Weltmanna % Ca Cl ₂	Zmętnienie w % przepuszczalności					
			1 godz.	2 godz.	24 godz.		0,15	0,12	0,09	0,06	0,03	0,00
									% Ca Cl ₂			
1	12997	6,6	2	3	15	0,20	83	70	79	80	87	83
2	13025	6,4	—	—	—	0,20	74	84	91	92	93	93
3	13024	—	—	—	—	0,20	88	82	86	88	91	89
4	13371	6,0	5	12	50	0,20	71	75	80	95	92	95
5	13570	6,6	3	4	39	0,12	—	—	86	91	96	97
6	13554	7,0	2	3	31	0,12	—	—	86	89	92	98
7	12988	—	2	3	13	0,15	—	79	81	89	90	91
8	13370	6,0	6	16	62	0,15	—	75	80	79	86	82
9	13422	7,1	7	25	61	0,15	—	78	80	83	87	89
10	13784	6,6	2	6	43	0,15	—	56	69	83	87	89
11	13794	6,6	2	4	21	0,15	—	67	89	94	96	97
12	13810	7,0	8	11	45	0,15	—	59	79	85	89	91
13	13861	6,9	2	4	24	0,15	—	79	90	93	96	96
14	13887	7,2	8	16	60	0,15	—	65	79	86	90	91
15	13892	6,9	4	10	45	0,15	—	61	89	88	90	91
16	13795	6,1	—	—	—	0,15	—	50	55	69	80	85
17	13806	6,1	—	—	—	0,15	—	63	75	79	87	89
18	13840	6,6	2	4	32	0,15	—	50	65	70	75	78
19	13755	6,6	1	2	30	0,15	—	51	78	74	79	81
20	13451	6,8	11	25	90	0,15	—	79	80	93	96	97
21	13493	7,2	4	8	64	0,15	—	70	81	86	95	95
Srednie ¹		6,60	4,1	9,2	42,6	—	—	66	78	83	88	89
Sredni błąd		±0,09										±1,3

1) Srednia zmętnień obejmuje próby krwi nr 7—21.

przepuszczalności po trzech tygodniach ze średnio 89% na 94%. Prawdopodobieństwo tej różnicy, obliczone metodą statystyczną, wynosi przeszło 95%, co stanowi różnicę statystycznie znamiennej.

Wyniki są tak jednoznaczne, że różnicę można uznać za istotną, mimo opierania się na badaniach w zakresie znacznego błędu przyrządu (90—100% przepuszczalności).

Odczyn Biernackiego uległ w ciągu trzech tygodni konserwacji silnemu zwolnieniu średnio z 4 mm na 0,7 mm po pierwszej godzinie, z 9 mm na 1,4 mm po drugiej i 43 na 17 mm po 24 godzinach.

Ilość białka nie wykazuje po trzech tygodniach różnic statystycznie istotnych, utrzymując się na poziomie około 6,5 g⁰/₀.

Streszczając, po trzech tygodniach konserwacji stwierdza się następujące odchylenia odczynów białkowych od wartości wyjściowych: zmniejszenie zmętnienia w trzynastej próbce nefelogramu Wuhrmanna-Wunderly'ego, zawierającej wodę podwójnie destylowaną, oraz zwolnienie opadania czerwonych krwinek.

T a b e l a II

Odczyn Biernackiego i Weltmanna oraz nefelogram Wuhrmanna-Wunderly'ego po trzech tygodniach konserwacji krwi

Lp. ¹⁾	Nr ampułki	Dzień konserwacji	Białko-suro-wicy g %	Odczyn Biernackiego			Odczyn Weltmanna % Cl Cl ₂	Zmętnienie w % przepuszczalności					
				1 godz.	2 godz.	24 godz.		0,12	0,9	0,06	0,03	0,00	
				% CaCl ₂									
1/10	13785	22	5,6	0	0	18	0,15	65	79	85	92	96	
2/11	13793	20	6,1	0	0	10	0,15	70	82	85	89	92	
3/12	13809	22	6,6	0	0	8	0,15	63	79	82	94	96	
4/13	13860	22	6,6	0	0	7	0,15	64	85	90	95	98	
5/14	13888	20	7,2	1	1	5	0,15	56	69	73	80	86	
6/15	13893	22	6,1	0	0	7	0,15	60	72	82	95	98	
7/16	13796	22	5,6	0	2	11	0,15	70	79	89	92	96	
8/17	13805	20	6,1	1	3	41	0,15	60	69	79	85	86	
9/18	13839	20	6,6	1	1	7	0,15	57	68	73	81	86	
10/19	13754	22	6,1	0	1	3	0,12	—	72	79	89	91	
11/20	13450	22	6,6	1	3	30	0,15	69	73	83	88	90	
12/21	13492	22	7,2	1	3	10	0,15	71	78	85	89	95	
13 —	13666	22	6,6	3	4	55	0,15	70	75	90	94	97	
14/—	13306	22	j a w n a h e m o l i z a										
15/—	13367	22	6,6	1	1	9	0,15	59	74	84	94	96	
16/—	13307	22	j a w n a h e m o l i z a										
17/—	13553	22	6,6	1	1	10	0,15	69	79	87	92	95	
18 —	13571	22	6,6	1	2	38	0,15	69	79	89	94	97	
Średnie ²⁾		21,5	6,4	0,7	1,4	16,8	—	65	76	84	89	94	
Średni błąd			±0,12									±1,2	

¹ W mianowniku numer tej samej krwi badanej w pierwszym dniu konserwacji.

² Średnia zmętnień nie obejmuje krwi nr 10.

Za główną przyczynę powyższych zmian uważa się wypadanie fibrynogeny w czasie konserwacji. Zmniejszenie się ilości fibrynogeny we krwi spowodowało ograniczenie ilości białek wypadających w wodzie destylowanej (w wodzie destylowanej ulega wytrąceniu fibrynogen i globuliny, głównie frakcja 6) oraz przyczyniałoby się między innymi do zwolnienia odczynu Biernackiego, do którego prowadzi również pęcznienie czerwonych krwinek obserwowane w czasie konserwacji.

Kilkanaście miesięcy po wygłoszeniu niniejszego referatu na posiedzeniu Komitetu Badań Transfuzji Krwi Poznańskiego Towarzystwa Przyjaciół Nauk ukazała się praca *Zakrzewskiego i Malca*, będąca potwierdzeniem mego stanowiska. Autorzy wykazali zmniejszanie poziomu fibrynogeny dochodzące po trzech tygodniach konserwacji krwi średnio do 85% wartości wyjściowej (a nawet do 70% — krew nr 5), a po dwóch miesiącach do 65% ilości początkowej.

Przedstawione wyniki badań odczynów białkowych, wykazujące tylko nieznaczne odchylenia po konserwacji, są zgodne z doniesieniami autorów pracujących metodami ilościowymi i świadczą o znacznej stałości białek w czasie konserwacji krwi.

Г. Бомски

БЕЛКОВЫЕ РЕАКЦИИ ВО ВРЕМЯ КОНСЕРВАЦИИ КРОВИ

Содержание

Для определения подвергаются ли белки плазмы во время консервации крови качественным изменениям, неопределяемым электрофорезом и высаливанием, прослежено белковые реакции во время консервации.

Для этого проведено ряд исследований консервированной крови день спустя после взятия (21 проба) и после трех недель (18 проб). Во всех случаях определялось количество белков плазмы и следующие белковые реакции: реакция Бельтманна, водная, тимоловая, кадмовая, цинковая и едкая, нефелограмма Вурманна-Вундерли и РОЭ.

Изменения обнаружены только при водной реакции и РОЭ.

Главной причиной этих изменений считается выпадение фибрина во время консервации крови.

H. B o m s k i

THE PROTEIN REACTIONS DURING BLOOD CONSERVATION

S u m m a r y

To state whether the plasma proteins do not change their quality during blood conservation, what is not found by the electrophoretic method and by salting out, the protein reactions during blood conservation were examined. For this purpose the conserved blood was examined on the day following that when the blood had been received (21 cases) and after three weeks of conservation (18 cases).

In all the cases the quantity of plasma proteins was determined and the following protein reactions were made: Weltmann's reaction, water test, cadmium test, thymol test, zinc test, iodide test, Wuhrmann-Wunderly's nephelogram and Biernacki's reaction.

Changes were stated only in the water test and in Biernacki's reaction. As the main cause of these changes the fibrinogen precipitation during blood conservation has been considered.

PIŚMIENNICTWO

1. Auerswald W., Wenzl M.: Electrophoretische Plasmauntersuchungen zur Frage der Alterung der Blutkonserven, Wien. Klin. Wschr. 1950, 62, 775. — 2. Bartz J., Fidelski R., Szperl — Seyfried H. i współpr.: Zachowanie się składników upostaciowanych krwi w czasie konserwacji, PAMW, 1951, 2, 241. — 3. Bubb W., Pedrazini A.: Einfluss der Nahrungsaufnahme auf den Ausfall einiger Serumweißreaktionen. Schw. Med. Wschr., 1949, 8, 167. — 4. Macdonald A., Stephen G. M.: Changes in Stored Blood, Lancet, 1939, II, 23, 1169. — 5. Filatow A. W., Lindenbaum I. S.: Pereliwanie Konserwinowannoj Krowi, w Szamow W. N. i Filatow A. W., Rukowadstwo po pereliwaniju Krowi, Moskwa 1940. — 6. Fischbeck K., Lang K.: Über das Verhalten der Serumkonserve beim Lagern, Klin. Wschr., 1943, 36/37, 568. — 7. Gnoiński W.: Przechowywanie krwi przez czas dłuższy (90 dni), zmiany w niej zachodzące oraz jej własności lecznicze, Medycyna, 1938, 5, 156. — 8. Itey: wg Jeanne-

nye i Ringenbach. — 9. Jeanneney G., Ringenbach G.: *Traite' de la Transfusion Sanguine*, Paris 1940.

10. Knoll H.: Experimenteller Beitrag zur Frage der Bluttransfusion mit Konservierten Blut, *Dtsch. Zschr. f. Chir.* 1939, 252, 7/8, 463. — 11. Kopplow E.: Über das Verhalten von normal -- und immunagglutininen in der Serumkonserve, *Klin. Wschr.* 1943, 44/45, 673. — 12. Lang K., Feinen F. I., Cramer H. D.: Die Beständigkeit der Eiweissfractionen und Fermente in lange gelagerten menschlichen Serumkonserven, *Klin. Wschr.* 1951, 11/12, 217. — 13. Mstibowski: wg Schürcha. — 14. Mutzenbecher: wg Fischbecka. — 15. Roche, Bracco, wg Fischbecka. — 16. Rogulski J. i współpr.: Zmiany biochemiczne krwi konserwowanej, *PAMW*, 1951, 3, 435. — 17. Schürch O., Willenegger H., Knoll H.: Blutkonservierung und Transfuzion von Konservierten Blut, Wien 1942. — 18. Scudder J.: Studies in blood preservation, *Ann. Surg.* 1940, 112, 4502. — 19. Tagnon H., Cohn J.: La transfusion sanguine, *Actualites Medico-chirurgicales*, I, Bruxela, 1944. — 20. Willenegger, Ottensooser: wg Schürcha. — 21. Witjuckij: wg Filatowa. — 22. Wolff J.: Über die Konservierung von Transfusionsblut, *Med. Klin.* 1941, 29, 732. — 23. Wuhrmann F., Wunderly Ch., de Nicola P.: Über die Heterogenität der δ Globuline im Krankheits halber veränderten Blutserum, *Klin. Wschr.*, 1950, 39/40, 667. — 24. Zakrzewski K., Malec J.: *Biochemia Krwi Konserwowanej*, II, Białka, *Acta Physiologica Polonica*, 1953, 3, 237.

Otrzymano: 21. V. 1954.