

Из кафедры биохимии—зав. проф. Ф. Я. Беренштейн

О МЕХАНИЗМЕ КИСЛОТНОЙ АГГЛЮТИНАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ

Ф. Я. Беренштейн.

Изучая в течение последних нескольких лет вопрос о кислотной агглютинации эритроцитов, мы до сих пор совершенно не затрагивали темы о механизме данного явления. Вопрос же о механизме процесса агглютинации, как специфической, так и неспецифической, несмотря на то, что ему было посвящено не мало исследований, до сих пор не может считаться решенным.

Так, исследования Bordet, Aisenberg'a и Volk'a, Bilz'a, Landstteiner'a и Jagic'a, Ivanovics'a, Vu, Seuffert'a и многих других свидетельствуют, что агглютинация как бактерий, так и эритроцитов наступает в результате адсорбции агглютинируемым телом того вещества, которое вызывает агглютинацию.

В результате указанной адсорбции происходит уменьшение заряда микробов или эритроцитов, вследствие чего наступает агглютинация (Скадовский и Шредер, Northrop и Kruif, Northrop и Freund, Lasseur и Dupaix, Tittsler и Lisse, Schibley, Soru, Nozau и Volin и др.). Таким образом, по мнению вышеприведенных авторов, не существует никакой принципиальной разницы между коагуляцией коллоидов и процессом агглютинации.

Другое объяснение дает данною вопросу Кони́ков. Этот автор считает, что процесс агглютинации по своему существу является процессом химическим, аналогичным процессу кристаллизации. К указанному заключению автор приходит на основании ряда фактов, которые нашими исследованиями не подтвердились. Кони́ков утверждает: „Электролиты препятствуют агглютинации эритроцитов и притом в такой же степени, какой они способствуют растворимости желатины, относительные количества, достаточные для подавления агглютинации в изоэлектрической точке, изомолекулярных растворов $\text{NaCl} : \text{Na}_2\text{SO}_4 : \text{CaCl}_2 : \text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ равны соответственно $8 : 4 : 1 : 1/4$ “. Как показали наши исследования, та-

кое соотношение не является закономерным. Конилов, исходя из своих опытов о влиянии CuSO_4 , $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ и $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ на кислотную агглютинацию, в которых он установил, что CuSO_4 и $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$ передвигают зону кислотной агглютинации в щелочную сторону, а $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ в кислую, приходит к заключению, что указанное явление следует объяснить тем, что в первом случае тяжелый металл является катионом (Cu , Zn), а вследствие этого вступает в реакцию с эритроцитами, находящимися при РН большем, чем их изоэлектрическая зона, а во втором случае, наоборот. По нашему мнению, здесь наблюдается совершенно другое явление: $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ведет себя, как любая соль щелочного или щелочно-земельного металла, и свойство железа, входящего в комплексный ион, совершенно не выявляется. Указанная соль, как показали наши исследования, задерживает кислотную агглютинацию очень сильно, поэтому, если взять ее в небольших количествах, то у тех животных, у которых наблюдается обрыв зоны агглютинации при сильно-кислой реакции, будет наблюдаться перенос зоны в более кислую сторону. Действие же солей тяжелых металлов (CuSO_4 и $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$) следует объяснить усилением кислотной агглютинации в присутствии указанных солей. Это усиление, как показали наши исследования, приводимые ниже, может быть объяснено суммированием влияния ионов водорода и ионов тяжелых металлов.

Приступая к изучению вопроса о механизме кислотной агглютинации эритроцитов, мы задались целью установить, какова судьба кислоты при данном явлении, т. е. установить те количественные закономерности, согласно которым кислота связывается с эритроцитами, а также выяснить, существует ли связь между различной зоной РН, в пределах которой способны агглютинироваться эритроциты некоторых видов животных и способностью их связывать кислоту.

Вначале была поставлена серия опытов с целью выяснения, как изменяется количество связанной эритроцитами кислоты в зависимости от концентрации последней в растворе. Для выяснения указанного вопроса мы поступали следующим образом. В 10 колбочек наливали 20 см³ 6% раствора глюкозы, подкисленной уксусной кислотой, с таким расчетом, чтобы концентрация уксусной кислоты в отдельных колбочках колебалась приблизительно от 5 до 50 м/молей на литр. В каждую колбочку было помещено по 1 см³ отмытых 6% глюкозой эритроцитов, после этого оставлялась суспензия эритроцитов при комнатной температуре на 30 минут. По истечении указанного срока жидкость центрифугировалась для осаждения эритроцитов и подвергалась титрованию $\frac{1}{200}$ N едкой щелочью.

Для титрования мы брали по 5 см³ глюкозы, при одновременном титровании растворов глюкозы, подкисленных уксусной кислотой, в которых эритроциты взвешены не были. Всего нами было поставлено на 5 собаках 10 опытов, средние данные из которых приведены в таблице № 1.

Т А Б Л И Ц А № 1

Количество см³ 1/200 N NaOH, пошедшее для нейтрализации уксусной кислоты, находящейся в 5 см³ раствора глюкозы, что соответствует 0,25 см³ эритроцитов.

(Опыты производились с эритроцитами собак).

№№ колб-чек	Начальная концентрация CH ₃ COOH	Конечная концентрация CH ₃ COOH (C)	Количество кислоты, поглощенное эритроцитами (X)	Lg C	Lg X
1	4,4	2,1	2,3	0,3222	0,3617
2	9,9	6,5	3,4	0,8129	0,5315
3	14,2	10,2	4,0	1,0086	0,6021
4	19,7	15,0	4,7	1,1761	0,6721
5	24,4	19,1	5,3	1,2810	0,7243
6	29,3	23,4	5,9	1,3692	0,7709
7	34,1	27,7	6,4	1,4425	0,8062
8	38,8	32,1	6,7	1,5065	0,8261
9	43,4	36,4	7,0	1,5611	0,8451
10	47,7	40,4	7,3	1,6064	0,8633

Приведенные данные показывают, что несмотря на то, что во всех случаях мы употребляли одинаковое количество эритроцитов, количество поглощенной кислоты колебалось в широких пределах. Абсолютное количество поглощенной эритроцитами кислоты возрастало вместе с увеличением концентрации кислоты в растворе; относительное же количество поглощенной кислоты, т. е. процент поглощенной кислоты по отношению к общей концентрации кислоты в растворе уменьшался.

Таким образом, результаты наших исследований не подтверждают данных Коникова о том, что кислота связывается эритроцитами согласно стехиометрическим закономерностям, а, наоборот, числовые данные, приведенные в таблице, свидетельствуют о том, что поглощение кислоты эритроцитами представляет собой адсорбционный процесс.

Как известно, количественные закономерности, наблю-

даемые при явлениях адсорбции, могут быть выражены формулой Фрейндлиха: $\frac{x}{m} = K \cdot C^{1/n}$ (1)

где: x —означает количество адсорбированного вещества, m —массу адсорбента, C —количество вещества, оставшееся в растворе после окончания адсорбции, K и $1/n$ —константы для соответствующего явления адсорбции.

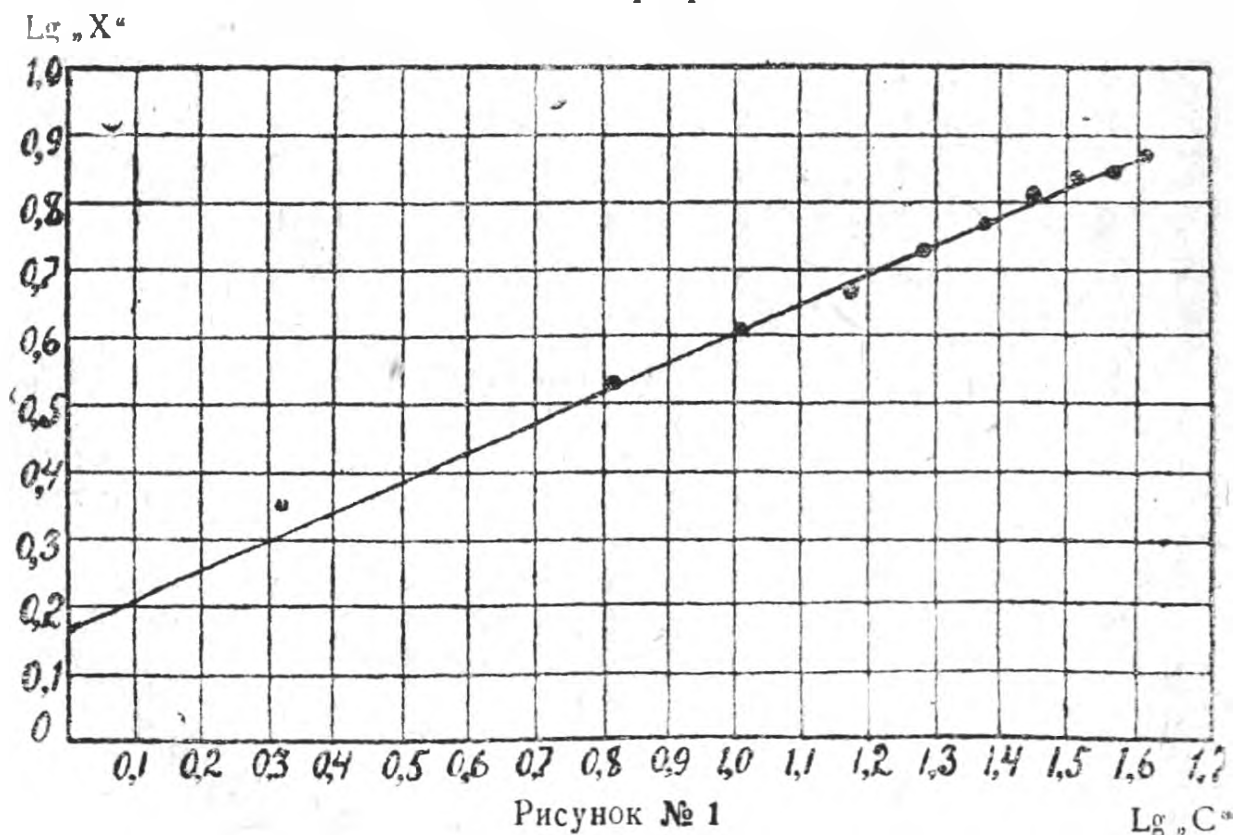
Поэтому явилось интересным вычислить на основании полученных нами числовых данных величины K и $1/n$ для случая адсорбции уксусной кислоты эритроцитами собаки.

В связи с тем, что во всех опытах было взято одинаковое количество эритроцитов, величина m в уравнении 1-ом являлась постоянной, а потому при вычислении K и $1/n$ мы ее во внимание не принимали и воспользовались несколько упрощенной формулой: $x = K \cdot C^{1/n}$ (2)

После логарифмирования данное уравнение принимает следующий вид: $Lg X = Lg K + 1/n Lg C$ (3).

При нанесении величины $Lg X$ и $Lg C$ на систему прямолинейных координат все точки должны лежать на прямой линии, что является доказательством того, что в данном случае имеется адсорбционный процесс.

На рисунке № 1 мы и приводим графическое изображение числовых величин логарифма X и C .



Итак мы видим, что при нанесении величин $Lg C$ и $Lg X$ на систему прямолинейных координат почти все точки лежат на прямой линии.

Из указанной диаграммы можно определить $Lg K$, чис-

ловое значение которого определяется величиной отрезка оси ординат от нуля до точки пересечения с логарифмической кривой адсорбции. В данном случае логарифм К будет равняться 0,16, а $K=1,45$. Величина $1/n$ определяется тангенсом угла наклона прямой к оси ординат и в данном случае равна 0,44.

Установив величины К и $1/n$ для адсорбции уксусной кислоты эритроцитами собаки, представляло интерес сравнить, насколько числовые величины X, полученные нами экспериментально, совпадают с величинами X, вычисленными на основании формулы Фрейндлиха.

В таблице № 2 приведены сравнительные данные относительно величины X, полученной нами экспериментально и вычисленной по формуле Фрейндлиха.

Числа, приводимые в таблице, выражены в тех же величинах, что и в таблице № 1.

ТАБЛИЦА № 2

№№ колб-чек	C	X, полученное экспериментально	X, полученное в результате вычислений	Отличие X экспериментального от X теоретического
1	2,1	2,3	2,0	+ 0,30
2	6,5	3,4	3,29	+ 0,11
3	10,2	4,0	4,02	- 0,02
4	15,0	4,7	4,76	- 0,06
5	19,1	5,3	5,29	+ 0,01
6	23,4	5,9	5,79	+ 0,11
7	27,7	6,4	6,23	+ 0,17
8	32,1	6,7	6,65	+ 0,05
9	36,4	7,0	7,03	- 0,03
10	40,4	7,3	7,36	- 0,06

Материал, приведенный в таблице № 2, показывает, что между X теоретическим и X экспериментальным существуют только незначительные расхождения. Это является снова доказательством того, что процесс связывания кислоты эритроцитами носит адсорбционный характер.

Теперь представляло интерес сравнить адсорбционную способность эритроцитов некоторых видов животных в отношении уксусной кислоты. Это сравнение является интересным в связи с тем, что, согласно материалу, опубликованному нами раньше, красные кровяные тельца разных

видов животных обладают неодинаковой агглютинабельностью под влиянием Н-ионов.

С этой целью были использованы эритроциты свиньи и лошади, ибо агглютинация красных кровяных телец свиньи прекращается при более кислой среде, а эритроцитов лошади—при более щелочной, чем агглютинация красных кровяных телец собаки.

Методика указанных опытов была такая же, как и в опытах с эритроцитами собаки, с тем лишь исключением, что, вместо 10 концентраций кислоты, нами было взято 5. Всего нами было поставлено по 6 опытов с эритроцитами свиньи и лошади, полученными от разных животных.

Средние данные этих опытов мы приводим в таблицах №№ 3 и 4.

ТАБЛИЦА № 3

Количество см³ 1/200 N NaOH, пошедшее для нейтрализации уксусной кислоты, находящейся в 5 см³ раствора глюкозы, что соответствует 0,25 см³ эритроцитов.

(Опыты производились с эритроцитами свиньи)

№№ колбочек	Начальная концентрация CH ₃ COOH	Конечная концентрация CH ₃ COOH (С)	Количество кислоты, поглощенной эритроцитами (X)	LgC	LgX
1	9,8	7,7	2,1	0,8865	0,3222
2	19,4	16,6	2,8	1,2201	0,4472
3	28,4	25,1	3,8	1,3997	0,5185
4	37,6	33,7	3,9	1,5277	0,5911
5	45,1	40,9	4,2	1,6117	0,6233

ТАБЛИЦА № 4

Количество см³ 1/200 N NaOH, пошедшее для нейтрализации уксусной кислоты, находящейся в 5 см³ раствора глюкозы, что соответствует 0,25 см³ эритроцитов.

(Опыты производились с эритроцитами лошади)

№№ колбочек	Начальная концентрация CH ₃ COOH	Конечная концентрация CH ₃ COOH (С)	Количество кислоты, поглощенной эритроцитами (X)	LgC	LgX
1	10,1	5,8	4,3	0,6934	0,6335
2	19,8	13,7	6,1	1,1367	0,7853
3	29,5	22,1	7,4	1,3444	0,8692
4	38,4	30,0	8,4	1,4771	0,9243
5	47,7	38,1	9,6	1,5809	0,9823

Теперь можно определить величины адсорбционных констант для эритроцитов свиньи и лошади путем нанесения на систему прямолинейных координат числовых значений $Lg C$ и $Lg X$.

На рисунке № 2 помещены логарифмические кривые для случая адсорбции уксусной кислоты эритроцитами свиньи и лошади.

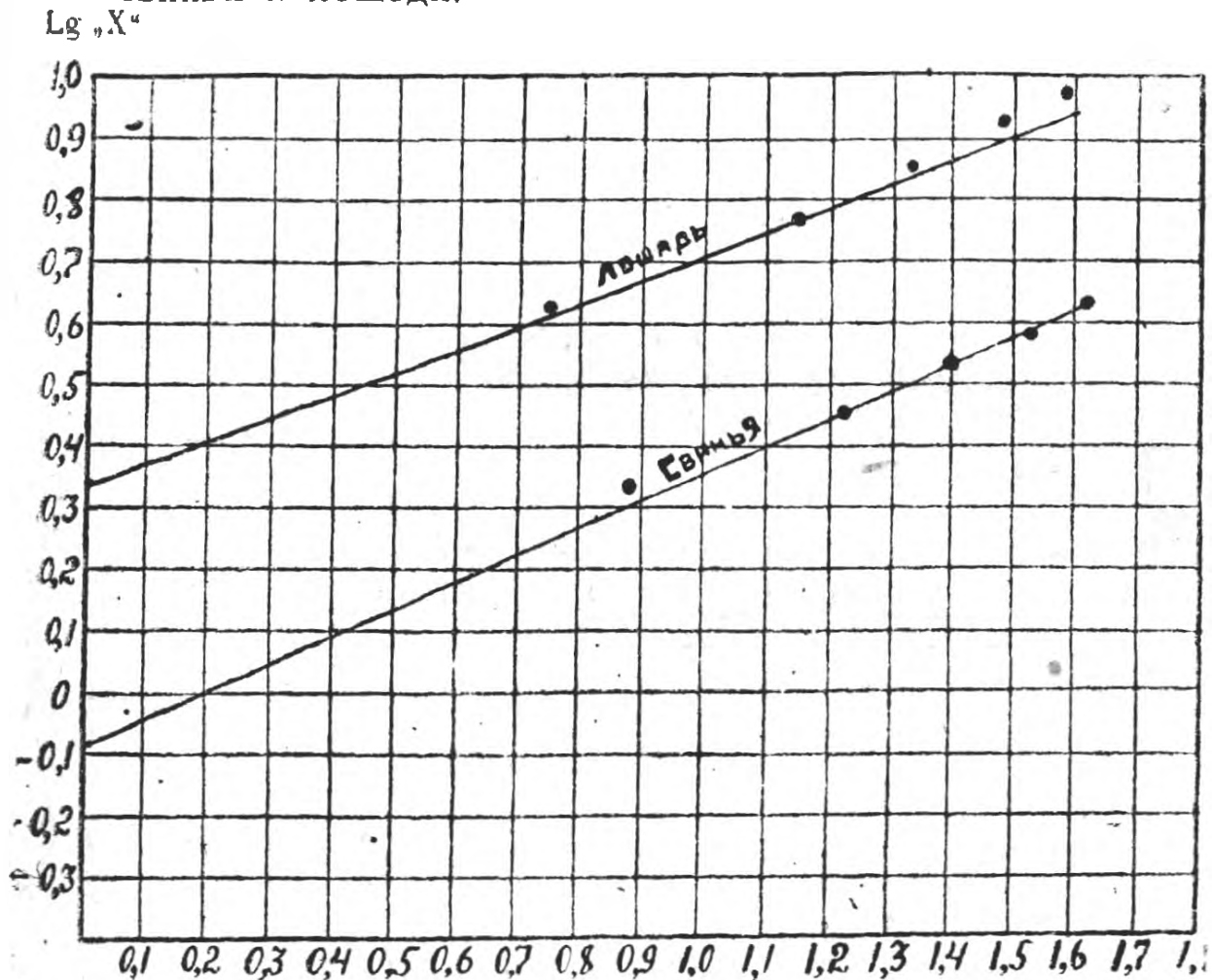


Рисунок № 2

$Lg „C“$

Подвергая математической обработке данные, приведенные на рисунке № 2, мы находим, что $Lg K$, для случая адсорбции уксусной кислоты эритроцитами свиньи равен— 0,09 или 1,91; откуда $K=0,81$; соответствующие величины для эритроцитов лошади будут 0,33 и 2,14. Величина $1/p$ для эритроцитов свиньи будет равна 0,44, а для эритроцитов лошадей 0,41.

Определив величины адсорбционных констант для эритроцитов свиньи и лошади, можем вычислить, насколько величины X , полученные нами экспериментально, совпадают с числовыми значениями X , вычисленными теоретически.

В таблицах №№ 5 и 6 приведен соответствующий материал.

Т А Б Л И Ц А № 5

Сравнительные данные числовых значений X экспериментального и X теоретического для эритроцитов свиньи.

№№ колбочек	C	X, полученное экспериментально	X, полученное в результате вычислений	Отличие X exper. от X теоретическ.
1	7,7	2,1	2,00	+ 0,10
2	16,6	2,8	2,80	± 0,0
3	25,1	3,3	3,36	- 0,06
4	33,7	3,9	3,82	+ 0,08
5	40,9	4,2	4,16	+ 0,04

Т А Б Л И Ц А № 6

Сравнительные данные числовых значений X экспериментального и теоретического для эритроцитов лошади.

№№ колбочек	C	X, полученное экспериментально	X, полученное в результате вычислений	Отличие X exper. от X теоретического
1	5,8	4,3	4,40	- 0,10
2	13,7	6,1	6,25	- 0,15
3	22,1	7,4	7,60	- 0,20
4	30,0	8,4	8,60	- 0,20
5	38,1	9,6	9,51	- 0,09

Сравнивая данные о поглощении уксусной кислоты эритроцитами собаки, лошади и свиньи, видим, что наибольшей адсорбционной способностью обладают красные кровяные тельца лошади и наименьшею—свиньи. Из материала же, приведенного в одном из наших предыдущих сообщений, видно, что эритроциты лошади обладают наибольшей агглютинабельностью в отношении H-ионов, а красные кровяные шарики свиньи—наименьшею. На основании этого мы можем утверждать, что между способностью эритроцитов адсорбировать кислоту и агглютинабельностью их под влиянием H-ионов существует определенная зависимость.

Указанное положение не исключает возможности, что различная агглютинабельность эритроцитов под влиянием H-ионов, может также зависеть от различной величины электрического заряда красных кровяных телец, взвешенных в растворах сахаров.

Теперь возникает вопрос о том, как можно увязать полученные нами результаты, свидетельствующие о том, что кислота связывается эритроцитами, согласно адсорбционной кривой, с общеизвестными фактами проницаемости оболочки эритроцитов для H-ионов, а также с данными Леба и других авторов, что белки образуют с кислотами химические соединения; и не противоречат ли результаты наших исследований вышеуказанным данным. По нашему мнению здесь противоречия никакого нет.

Во-первых, существуют многочисленные литературные данные (Traube, Krebs, Nachmanson и друг.) заставляющие предполагать, что явление проницаемости клеточной оболочки в отношении ряда веществ зависит от ее адсорбционной способности. Во-вторых не исключена возможность, что определенная часть адсорбированной кислоты вступает в химическую связь с белками эритроцитов.

Для того, чтобы проверить имеет ли процесс связывания кислоты эритроцитами чисто-адсорбционный характер, или же адсорбция кислоты сопровождается другими явлениями (проницаемостью кислоты внутрь шариков, или вступлением кислоты в химическую связь с белками), мы в серии опытов изучили процесс десорбции кислоты, при помещении эритроцитов, поглотивших кислоту, в раствор глюкозы.

Для выяснения вопроса о течении процесса десорбции, мы поступали следующим образом. В 10 колбочек наливали по 60 см³ 6% раствора глюкозы, подкисленной уксусной кислотой, с таким расчетом, чтобы концентрация уксусной кислоты в отдельных колбочках колебалась в пределах от 5 до 50 м/молей на литр. Сюда же добавляли 3 см³ отмытых от сыворотки раствором глюкозы эритроцитов и оставляли в течение получаса при комнатной температуре. По истечении указанного срока эритроциты путем центрифугирования отделялись от жидкости, в которой были взвешены, и 1 см³ этих эритроцитов помещался в 6% раствор глюкозы, не содержащей кислоты. Через 30 минут жидкость центрифугировалась, после чего титровали 1/200 N NaOH.

Для титрования брали 5 см³ жидкости. Титрованию подвергался как чистый раствор глюкозы, так и раствор глюкозы, в котором были взвешены эритроциты, поглотившие кислоту; для того, чтобы выяснить сколько кислоты поглотили эритроциты, мы одновременно титровали раствор глюкозы, подкисленный уксусной кислотой до помещения в него эритроцитов и после отцентрифугирования последних.

Всего было проведено с эритроцитами 5 собак 10 опытов, средние данные из которых мы приводим в таблице № 7.

Т А Б Л И Ц А № 7

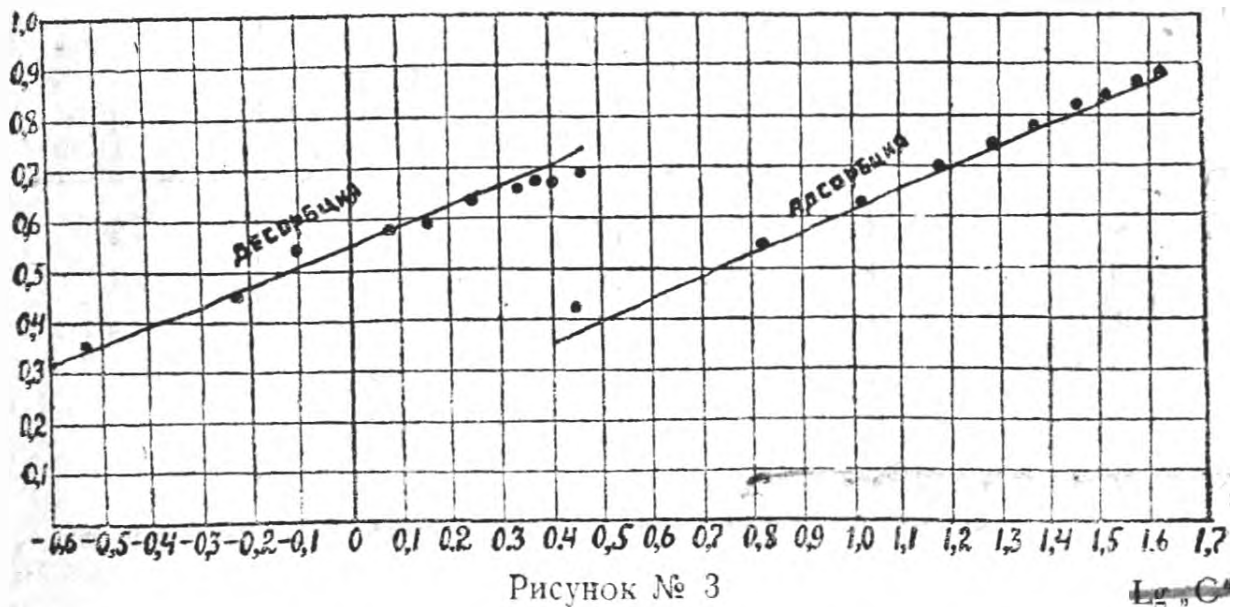
№№ колб-чек	Количество см ³ 1/200 N NaOH пошедших на титрование 5 см ³ глюкозы, смешан. с уксусной кислотой		Колич. см ³ 1/200 N уксуск-ты, поглощ. 0,25 см ³ эритроцитов (X)	Количество см ³ 1/200 N NaOH, пошедших на титрование 5 см ³ 6% глюкозы		Колич. см ³ 1/200 N уксускислоты, отданной 0,25 см ³ эритроц. при помещении их в раствор глюкозы (С)	Колич. см ³ 1/200 N уксусной к-ты, поглощ. 0,25 см ³ эритроцитов (X)
	Без эритроцитов	После поглощения кислоты эритроцитами (С)		Без эритроцитов	После отдачи эритроцитами части поглощен. ими кислоты		
1	5,4	2,8	2,6	0,1	0,4	0,3	2,2
2	10,1	6,6	3,5	0,1	0,7	0,6	2,9
3	14,9	10,7	4,2	0,1	0,9	0,8	3,4
4	20,2	15,2	5,0	0,1	1,3	1,2	3,8
5	21,9	19,5	5,4	0,1	1,6	1,5	3,9
6	30,0	23,8	6,2	0,1	1,9	1,8	4,4
7	34,7	28,1	6,6	0,1	2,2	2,1	4,5
8	39,7	32,9	6,8	0,1	2,3	2,2	4,6
9	44,9	37,7	7,2	0,1	2,6	2,5	4,7
10	49,7	42,0	7,7	0,1	3,0	2,9	4,8

Теперь интересно представить параллельно логарифмические кривые процессов адсорбции и десорбции уксусной кислоты эритроцитами собаки. Однако, прежде, чем это сделать, нам необходимо определить, исходя из данных, приведенных в таблице № 7, числовые значения $\lg X$ и $\lg C$ как для процесса адсорбции, так и для десорбции уксусной кислоты эритроцитами. Эти данные мы помещаем в табл. № 8.

ТАБЛИЦА № 8
Величины логарифмов С и X для адсорбции и десорбции уксусной кислоты эритроцитами собаки, согласно числовым данным таблицы № 7.

Адсорбции		Десорбции	
С	X	С	X
0,4472	0,4150	— 0,5229	0,3424
0,8195	0,5441	— 0,2218	0,4624
1,0294	0,6233	— 0,0969	0,5815
1,1818	0,6990	0,0792	0,5798
1,2900	0,7324	0,1761	0,5911
1,3766	0,7924	0,2553	0,6485
1,4487	0,8195	0,3222	0,6532
1,5172	0,8325	0,3424	0,5628
1,5763	0,8573	0,3979	0,6721
1,6233	0,8865	0,4624	0,6812

Нанося числовые величины из таблицы № 8 на систему прямолинейных координат, мы получили одновременно графическое изображение процесса адсорбции и десорбции уксусной кислоты эритроцитами собаки (см. рис. № 3).
 $\lg „X“$



Приведенное на рисунке № 3 графическое изображение числовых величин процессов адсорбции и десорбции уксусной кислоты эритроцитами собаки свидетельствуют о том, что кривые адсорбции и десорбции не совпадают; при десорбции также наблюдается, что значительное число точек лежат не на прямой линии. Это все говорит о том, что поглощение уксусной кислоты эритроцитами является процессом не простой физической адсорбции, а что тут наряду с адсорбцией имеются налицо и некоторые другие процессы.

В следующей серии исследований мы изучали вопрос о влиянии на адсорбцию кислоты эритроцитами собаки нахождения в растворе сыворотки крови. Для выяснения этого вопроса дефибринированная кровь центрифугировалась в градуированной центрифужной пробирке до тех пор, пока объем осевших эритроцитов не приобретал постоянной величины. Выяснив объем, занимаемый красными кровяными тельцами, мы брали на 20 см³ раствора глюкозы такое количество дефибринированной крови, которое точно соответствовало бы 1 см³ эритроцитов. Параллельно были взяты красные кровяные тельца, отмытые от сыворотки 6% раствором глюкозы.

Всего было поставлено в данном направлении 5 опытов, средние которых приведены в таблице № 9.

Т А Б Л И Ц А № 9

Влияние сыворотки на адсорбцию кислоты эритроцитами собаки.

Количество см² 1/200 N NaOH, пошедшее для нейтрализации уксусной кислоты, находящейся в 5 см³ раствора глюкозы, что соответствует 0,25 см³ эритроцитов *).

Начальная концентрация СН ₃ СООН	Опыты с отмытыми эритроцитами		Опыты с дефибринированной кровью	
	Конечная концентрация уксусн. кислоты	Колич. к-ты, поглощенное эритроцитами	Конечная концентрация уксусн. кислоты	Колич. к-ты, поглощенное эритроцитами
10,1	6,6	3,5	5,9	4,2
20,2	15,4	4,8	13,8	6,4
29,4	23,7	5,7	21,6	7,8
40,4	33,9	6,5	31,4	9,0
47,5	40,2	7,3	37,8	9,7

*) Во все числа, помещенные в указанной графе, внесена поправка, учитывающая количество кислоты, связанной сывороткой, находящейся в растворе.

Итак мы видим, что при употреблении вместо отмытых эритроцитов дефибринированной крови, адсорбция кислоты эритроцитами увеличивается.

Исходя из ранее установленного нами факта, что наличие сыворотки влечет за собой повышение агглютинабельности эритроцитов под влиянием H-ионов, можно сделать заключение, что усиление кислотной агглютинации красных кровяных телец под влиянием сыворотки, следует объяснить тем, что в присутствии сыворотки эритроциты лучше адсорбируют кислоту.

В дальнейшем мы поставили ряд опытов с целью выяснения вопроса о влиянии повышенного осмотического давления раствора, в котором находились эритроциты, на адсорбцию последними уксусной кислоты

Эти опыты были поставлены потому, что наши предыдущие исследования показали, что вместе с повышением осмотического давления среды, в которой находятся красные кровяные тельца, агглютинабельность их понижается.

Для опытов в данном направлении были использованы отмытые от сыворотки эритроциты собак, которые помещались в 6%, 12%, 18% и 24% растворы глюкозы.

Всего по данному вопросу нами было поставлено 8 опытов, средние данные которых приводим в таблице № 10.

Т А Б Л И Ц А № 10

Влияние увеличения концентрации глюкозы на адсорбцию эритроцитами собаки уксусной кислоты.

Количество см³ 1/200 N NaOH, пошедшее для нейтрализации уксусной кислоты, находящейся в 5 см³ раствора глюкозы, что соответствует 0,25 см³ эритроцитов.

Начальная концентрация CH ₃ COOH	Опыты с 6% глюкозой		Опыты с 12% глюкозой		Опыты с 18% глюкозой		Опыты с 24% глюкозой	
	Конечная концентрация уксусн. кисл.	Колич. поглощенное эритроцит.	Конечная концентрация уксусн. кисл.	Колич. поглощенное эритроцит.	Конечная концентрация уксусн. кисл.	Колич. поглощенное эритроцит.	Конечная концентрация уксусн. кисл.	Колич. поглощенное эритроцит.
9,7	6,3	3,4	6,4	3,3	6,8	2,9	7,0	2,7
19,3	14,3	5,0	14,4	4,9	14,9	4,4	15,5	3,8
29,1	23,1	6,0	23,0	6,1	23,8	5,3	24,5	4,6
39,4	32,6	6,8	32,6	6,8	33,3	6,1	33,8	5,6
47,5	40,4	7,1	40,3	7,2	40,9	6,6	41,4	6,1

На основании материалов, приведенных в таблице № 10, видно, что при увеличении осмотического давления раствора, в котором взвешены эритроциты, в 2 раза, адсорбирующая способность красных кровяных телец не претерпевает заметных изменений; при увеличении же концентрации глюкозы в растворе в 3—4 раза, способность эритроцитов адсорбировать уксусную кислоту понижается.

Исходя из полученных данных, можно сделать заключение, что описанный нами раньше факт задержки кислотной агглютинации в связи с повышением осмотического давления среды, в которой взвешены эритроциты, надо объяснить тем, что при нахождении эритроцитов в гипертонических растворах, они теряют в некоторой степени способность адсорбировать H-ионы.

В следующей серии исследований мы остановились на изучении вопроса о том, какое влияние оказывает на адсорбцию уксусной кислоты наличие в среде, где находятся эритроциты, минимальных количеств солей тяжелых металлов.

Как показали наши предыдущие исследования, соли тяжелых металлов в минимальных концентрациях повышают агглютинабельность эритроцитов под влиянием H-ионов. Поэтому представляло интерес выяснить, зависит ли усиление кислотной агглютинации эритроцитов под воздействием солей тяжелых металлов от увеличения адсорбционной способности или же от каких-либо других причин.

Для выяснения указанного вопроса были использованы следующие соли тяжелых металлов: сернокислая медь, азотнокислый кобальт, азотнокислый уран, сернокислый цинк и сулема.

Соли тяжелых металлов добавлялись к суспензии эритроцитов собаки в таких концентрациях, при которых они сами неспособны были вызвать агглютинации, но одновременно усиливали кислотную агглютинацию (см. таб. №№ 11, 12).

ТАБЛИЦА № 11

Влияние сернокислой меди и азотнокислого кобальта на адсорбцию уксусной кислоты эритроцитами собаки.

Количество см³ 1/200 N NaOH, пошедшее для нейтрализации уксусной кислоты, находящейся в 5 см³ раствора глюкозы, что соответствует 0,25 см³ эритроцитов.

Начальная концентрация	Опыты с 6% глюкозой		Опыты с 6% глюкозой + CuSO ₄ 1/20000 M		Опыты с 6% глюкозой + Co(NO ₃) ₂ 1/20000 M	
	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощен. эритроцит.	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощен. эритроцит.	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощен. эритроцит.
9,6	6,2	3,4	6,1	3,5	5,9	3,7
18,8	14,2	4,6	14,3	4,5	14,4	4,4
28,6	22,7	5,9	22,8	5,8	22,6	6,0
39,0	32,5	6,5	32,4	6,6	32,3	6,7
46,6	39,3	7,3	39,2	7,4	39,6	7,0

ТАБЛИЦА № 12.

Влияние азотнокислого урана, сернокислого цинка и сулемы на адсорбцию эритроцитами уксусной кислоты.

Количество см³ 1/200 N NaOH, пошедшее для нейтрализации уксусной кислоты, находящейся в 5 см³ раствора глюкозы, что соответствует 0,25 см³ эритроцитов.

Начальная концентрация CH ₃ COOH	Опыты с 6% глюкозой		Опыты с 6% глюкозой + UO ₂ (NO ₃) ₂ 1/10000 M		Опыты с 6% глюкозой + ZnSO ₄ 1/10000 M		Опыты с 6% глюкозой + HgCl ₂ 1/8000 M	
	Конечн. концентрация уксусн. кисл.	Колич. кисл. поглощенное эритроцитами	Конечн. концентрация уксусн. кисл.	Колич. кисл. поглощенное эритроцитами	Конечн. концентрация уксусн. кисл.	Колич. кисл. поглощенное эритроцитами	Конечн. концентрация уксусн. кисл.	Колич. кисл. поглощенное эритроцитами
11,4	7,8	3,6	7,8	3,6	7,6	3,8	7,9	3,5
21,4	16,3	5,1	16,1	5,3	16,2	5,2	16,1	5,3
30,6	24,8	5,8	24,6	6,0	24,5	6,1	24,9	5,7
40,6	34,0	6,6	33,9	6,7	33,9	6,7	33,8	6,8
48,8	41,5	7,4	41,3	7,6	41,6	7,3	41,3	7,6

На основании данных, приведенных в таблицах №№ 11 и 12 видно, что добавление минимальных количеств солей тяжелых металлов не оказывает заметного влияния на способность эритроцитов адсорбировать уксусную кислоту.

Исходя из того, что соли тяжелых металлов в тех концентрациях, которые усиливают кислотную агглютинацию, не изменяют адсорбирующей способности эритроцитов, надо признать, что усиливающее действие солей тяжелых металлов на агглютинацию эритроцитов Н-ионами, по видимому, объясняется суммированием агглютинирующего влияния водородных ионов и ионов тяжелых металлов.

Затем нами был подвергнут изучению вопрос о влиянии солей щелочных и щелочно-земельных металлов на адсорбцию эритроцитами уксусной кислоты. Эти опыты были нами предприняты, в связи с тем, что, по литературным данным, а также и по нашим собственным исследованиям, соли щелочных и щелочно-земельных металлов задерживают кислотную агглютинацию эритроцитов. Результаты этих исследований см. в табл. №№ 13, 14.

Материалы, приведенные в таблицах №№ 13 и 14 свидетельствуют о том, что добавление к раствору глюкозы солей щелочных и щелочно-земельных металлов повышает способность эритроцитов адсорбировать уксусную кислоту. Наиболее сильное влияние на адсорбционную способность эритроцитов оказывают соли щелочно-земельных металлов; более слабый эффект вызывает добавление к глюкозе хлористых солей натрия и калия; добавление же хлористого лития оказывает весьма незначительное влияние на адсорбционную способность эритроцитов.

Итак мы видим, что несмотря на то, что соли щелочных и щелочно-земельных металлов угнетают кислотную агглютинацию эритроцитов, они не только не уменьшают поглощение кислоты эритроцитами, но, наоборот, даже увеличивают. Таким образом, предположение о том, что вышеупомянутые соли препятствуют наступлению кислотной агглютинации красных кровяных телец, вследствие понижения адсорбционной способности эритроцитов в отношении Н-ионов, является неверным. Какое же объяснение можно дать указанному явлению.

Ряд авторов пытались дать такое объяснение. Так, Ruppström, установивший, что NaCl угнетает кислотную агглютинацию эритроцитов, высказывает предположение, что соли щелочных металлов увеличивают отрицательный заряд эритроцитов, вследствие адсорбции на своей поверхности анионов. Для подтверждения своего предположения автор приводит данные Høberga, который установил, что эритроциты, взвешенные в растворе, с незначительным со-

Т А Б Л И Ц А № 13

Влияние солей щелочно-земельных металлов на адсорбцию кислот эритроцитами собаки

Количество см³ 1/200 N NaOH, пошедшее для нейтрализации уксусной кислоты, паходящейся в 5 см³ раствора глюкозы, что соответствует 0,25 см³ эритроцитов.

Начальная концентрация CH ₃ COOH	Опыты с 6% глюкозой		Опыты с 6% глюкозой + CaCl ₂ 1/40 M		Опыты с 6% глюкозой + BaCl ₂ 1/40 M		Опыты с 6% глюкозой + MgCl ₂ 1/40 M	
	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощенное эритроцитами	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощенное эритроцитами	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощенное эритроцитами	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощенное эритроцитами
9,6	6,0	3,6	4,9	4,7	5,0	4,6	5,0	4,6
13,1	9,0	4,1	7,9	5,2	7,7	5,4	7,8	5,3
20,0	15,3	4,7	13,8	6,2	13,8	6,2	13,6	6,4
24,5	19,0	5,6	17,7	6,9	17,8	6,8	17,8	6,8
29,3	23,5	5,8	21,7	7,6	21,9	7,4	21,8	7,5

Т А Б Л И Ц А № 14

Влияние солей щелочных металлов на адсорбцию кислоты эритроцитами собаки

Количество см³ 1/200 N NaOH, пошедшее для нейтрализации уксусной кислоты, находящейся в 5 см³ раствора глюкозы, что соответствует 0,25 см³ эритроцитов

Конечная концентрация СН ₃ СООН	Опыты с 6% глюкозой		Опыты с 6% глюкозой + NaCl 1/40 M		Опыты с 6% глюкозой + KCl 1/40 M		Опыты с 6% глюкозой + LiCl 1/40 M	
	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощенное эритроцитами	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощенное эритроцитами	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощенное эритроцитами	Конечная концентрация уксусной кислоты	Количество кислоты, поглощенное эритроцитами
10,8	7,3	3,5	6,1	4,7	6,0	4,8	6,7	4,1
13,8	9,5	4,3	8,3	5,5	8,5	5,3	9,1	4,7
21,1	16,2	4,9	14,9	6,2	14,7	6,4	15,6	5,5
25,1	19,5	5,6	18,5	6,6	18,4	6,7	19,2	5,9
30,7	24,8	5,9	23,8	6,9	23,8	6,9	24,4	6,3

держанием NaCl, теряли свой заряд при пропускании CO₂; при увеличении же в растворе концентрации хлористого натрия до 0,8% исчезновение заряда эритроцитов при пропускании CO₂ не происходит.

Однако, непосредственное определение зарядов эритроцитов это предположение не подтвердило. Так Oliver и Bergard доказали, что эритроциты, взвешенные в растворе сахарозы, обладают большим отрицательным зарядом, чем в растворе указанного сахара после добавления какой-либо натронной или кальциевой соли. Точно также Northrop и Freund доказали, что заряд эритроцитов в присутствии солей щелочных и щелочно-земельных металлов не увеличивается, а, наоборот, уменьшается. Последние авторы объясняют стабилизирующее действие солей щелочных и щелочно-земельных металлов на суспензию эритроцитов тем, что указанные соли уменьшают коэзионную силу между клетками.

Höber и Haffner считают, что эритроциты ведут себя в растворах неэлектролитов, как суспензионные коллоиды, которые легко выпадают под воздействием H-ионов. При добавлении солей они приобретают свойства гидрофильных коллоидов, э, следовательно, и большую стабильность.

Желая проверить предположение Höber'a и Haffner'a, мы в серии опытов изучили влияние некоторых солей щелочных и щелочно-земельных металлов на вязкость суспензии эритроцитов, ибо известно, что гидрофильные коллоиды обладают большей вязкостью, чем гидрофобные.

Проведенные с этой целью опыты, которые мы здесь приводить не будем, так как собираемся их опубликовать отдельным сообщением, показали, что определенной зависимости между задерживающим действием солей щелочных и щелочно-земельных металлов на кислотную агглютинацию эритроцитов и влиянием солей на вязкость красных кровяных телец не наблюдается.

Таким образом, мы видим, что гипотеза, высказанная Höber'ом также не в состоянии вполне объяснить механизма, задерживающего действия электролитов на кислотную агглютинацию эритроцитов. Для выяснения указанного вопроса требуются дополнительные исследования.

Приведенные в работе исследования позволяют нам сделать следующие общие выводы:

Общие выводы

1. В процессе кислотной агглютинации связывание кислоты эритроцитами происходит не стехиометрически, как это предполагал Коников, а согласно адсорбционной кри-

вой. Указанный факт не исключает того положения, что часть адсорбированной кислоты проникает внутрь эритроцитов и вступает в химическую связь с белками последних. Подтверждением вышесказанного является то, что кривая десорбции не совпадает с кривой адсорбции.

2. Эритроциты некоторых видов животных обладают следующими адсорбционными константами. Для случая адсорбции уксусной кислоты из раствора глюкозы:

Свинья	$1/n = 0,44$	$K = 0,81$
Собака	$1/n = 0,44$	$K = 1,45$
Лошадь	$1/n = 0,41$	$K = 2,14$

3. Исходя из того факта, что эритроциты некоторых видов животных по своей агглютинабельности могут быть расположены в такой же ряд, как и по способности адсорбировать кислоту, надо признать, что одним из факторов, определяющих зону кислотной агглютинации, является различная адсорбционная способность красных кровяных телец различных видов животных.

4. При употреблении для исследования, вместо отмытых эритроцитов, дефибринированной крови, возрастает количество адсорбированной эритроцитами кислоты.

5. При увеличении осмотического давления жидкости, в которой взвешены эритроциты в 2 раза адсорбционная способность красных кровяных телец заметных изменений не претерпевает; при дальнейшем же увеличении осмотического давления (в 3 и 4 раза) способность эритроцитов адсорбировать уксусную кислоту незначительно снижается.

6. Исходя из фактов усиления адсорбирующей способности эритроцитов в присутствии сыворотки и понижения таковой в связи с увеличением осмотического давления, надо признать, что описанные нами в предыдущих работах факты усиления кислотной агглютинации в присутствии сыворотки и ослабления таковой при повышенном осмотическом давлении, следует объяснить изменениями адсорбирующей способности красных кровяных телец по отношению H-ионов.

7. На основании того, что соли тяжелых металлов при минимальных концентрациях усиливают кислотную агглю-

тинацию, не влияя заметным образом на адсорбцию кислоты эритроцитами, можно объяснить механизм усиливающего действия вышеуказанных солей суммированием агглютинирующего действия ионов тяжелых металлов с влиянием водородных ионов.

8. Соли щелочных и щелочно-земельных металлов, несмотря на то, что угнетают кислотную агглютинацию, усиливают способность эритроцитов адсорбировать ионы водорода. Этот факт свидетельствует о том, что не всегда интенсивность процесса кислотной агглютинации идет параллельно с адсорбционной способностью эритроцитов по отношению ионов водорода.

Повидимому, также предположение Нöber'a и Haffner'a не в состоянии вполне объяснить механизм задерживающего действия солей щелочных и щелочно-земельных металлов на кислотную агглютинацию эритроцитов. Для выяснения механизма задерживающего действия указанных солей на кислотную агглютинацию эритроцитов требуются дополнительные исследования.

Л и т е р а т у р а

1. Цветков и Беренштейн—Бюлетені Постійної Комісії вивчення кров'яних угруповань № 4, 1929 г.
2. Беренштейн—там-же, Т. 4, № 4, 1930 г.
3. Цветков и Беренштейн—там-же, Т. 5, № 1, 1930 г.
4. Беренштейн и Печко—там-же, Т. 5, № 2, 1931.
5. Беренштейн и Мартыненко—там-же, Т. 5, № 2, 1931 г.
6. Беренштейн, Лях и Бедриковская—Физиологический Журнал СССР № 3, 1933 г.
7. Беренштейн—Физиологический Журнал СССР № 5, 1933 г.
8. Беренштейн—Журнал Микробиологии, Эпидемиологии и Иммунологии Т. XII, № 2, 1936 г.
9. Беренштейн—Физиологический Журнал СССР Т. XXII, № 6, 1937 г.
10. Беренштейн и Школьник—там-же.
11. Bogdet—Annal de l'inst. Pasteur. Т. 10, 1889 г.
12. Aisenberg u. Volk—Zeitschr. f. Hygien u. Inf. Т. 40, 1902 г.

13. Biltz—Zeitschr. f. physikal. chemie T. 48, 1904 г.
14. Landsteiner—Munch. Medicinische Wochenschr. стр. 1905, 1902 г.
15. Landsteiner u. Jagie—там-же, стр. 764, 1903 г.
16. Jvanovics—Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. exper. Therapie T. 80, стр. 208, 1933.
17. Vu—там-же T. 41, стр. 393, 1924 г.
18. Seiffert—Klinische Wochenschrift, стр. 2144, 1924 г.
19. Скадовский и Шредер—Журнал Экспериментальной Биологии и Медиц. № 1, 1925 г.
20. Northrop a. Kruijff.—The Journ. of gener. Physiolog. T. 4, 1922 г.
21. Northrop a. Freund—там-же T. 6, 1924 г.
22. Lasseur u. Dupaix—Berichte u. ges. Physiol. u. exper. Pharmacol. T. 56, 1930 г.
23. Tittsler u. Lisse—Journ. of Bakteriolog. T. 15, № 2 1928 г.
24. Shibley—Journ. of exper. med. T. 40, № 4, 1924 г.
25. Soru—Compt. rend. de la Societe Biol. T. 101, стр. 969, 1929 г.
26. Hozay u. Votiu—Berichte u. ges. Physiologie u. exper. Pharmakol. T. 66, 1932 г.
27. Shibley—там-же T. 34, 1926 г.
28. Коников—Журнал Экспериментальной Биологии и Медиц., № 7, 1926 г.
29. Коников—там-же № 9, 1926 г.
30. Коников—там-же № 5, 1927 г.
31. Кониксв—там-же № 17, 1927 г.
32. Traube, Krebs u. Nachmansson—Цит. по Гельхорну «Проблемы проницаемости», 1932 г.
33. Runnström—Biochemische Zs. T. 123, 1921 г.
34. Oliver a. Bernard—The Journ. of gener. Physiologie. T. 7, 1924 г.
35. Haffner—Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiologie, T. 196, в. 1, 1922 г.
36. Höber—Die physikalische Chemie der Zelle u. der Gewebe, 5 издание.