

Т. М. ОКСМАН, М. В. ДАЛИН,
действительный член АМН СССР В. В. КОВАНОВ

ИШЕМИЧЕСКИЙ ТОКСИН

Патогенез шока, наблюдаемого как в клинике, так и в эксперименте при включении в общий кровоток конечности, длительно лишенной кровообращения, до настоящего времени не установлен. Многие исследователи (1-4) высказывали предположение, что причиной шоковой реакции в этих случаях служили токсические вещества, возникающие в поврежденном органе, однако прямых доказательств этого не было.

Ранее было показано (5), что в изолированной ишемизированной конечности возникают и накапливаются токсические вещества, вызывающие резкие нарушения гомеостаза при включении такого органа в кровоток здоровых собак. В настоящем сообщении представлены материалы по изучению и выделению этих веществ.

Опыты проведены на модели ампутированной задней конечности собаки, ишемизированной в течение 3 час. при комнатной температуре (18—20°). Токсические вещества, возникающие в такой конечности, вымывали и накапливали при помощи изолированной перфузии раствором Рингера—Локка в аппарате искусственного кровообращения АИК РП-64 при температуре 36°, производительности 80—100 мл/мин и при постоянной подаче кислорода в течение 3 час. В контрольных опытах конечность подключали к АИК РП-64 через 15 мин. после ампутации и перфузировали ее в течение 15 мин. при тех же режимах. Дополнительным контролем служила взятая под жгутом венозная кровь тех же собак, циркулирующая в замкнутой системе АИКа в растворе Рингера—Локка при тех же условиях в течение 15 мин.

Полученные перфузаты после удаления клеток крови центрифугированием концентрировали выветриванием в диализных мешках «Вискинг» при температуре 10—12°. Токсичность первичных и концентрированных перфузатов определяли титрованием DLM в опытах на белых мышах весом 12—15 г и рассчитывали удельный показатель в нагрузке на 1 мг белка препарата. Одновременно в концентратах исследовали содержание калия и натрия методом пламенной фотометрии, серотонина и гистамина — флуорометрическим методом. Затем концентрированные перфузаты диализовали против нейтрального физиологического раствора при 4°; диализаты концентрировали по вышеописанному способу и титровали на белых мышах DLM диализованного концентрированного перфузата и концентрированного диализата. Вновь определяли содержание калия, натрия, серотонина и гистамина.

Фракционный состав концентрированных диализатов исследовали методом хроматографии на колонке с гель-сефадексом G-15. Опыты проведены на колонке размерами 2 × 100 см, уравновешенной нейтральным физиологическим раствором. Элюцию фракций с колонки осуществляли тем же физиологическим раствором, который подавали на колонку при помощи сифонной системы. Отбор элюируемых фракций проводили на хроматографе ХХКВ-1; в каждой фракции определяли оптическую плотность при 280 мμ на спектрофотометре СФ-Д-2; строили профиль кривой элюции и по этому графику объединяли отобранные пробы во фракции, обозначавшиеся номерами первой и последней объединенных пробирок.



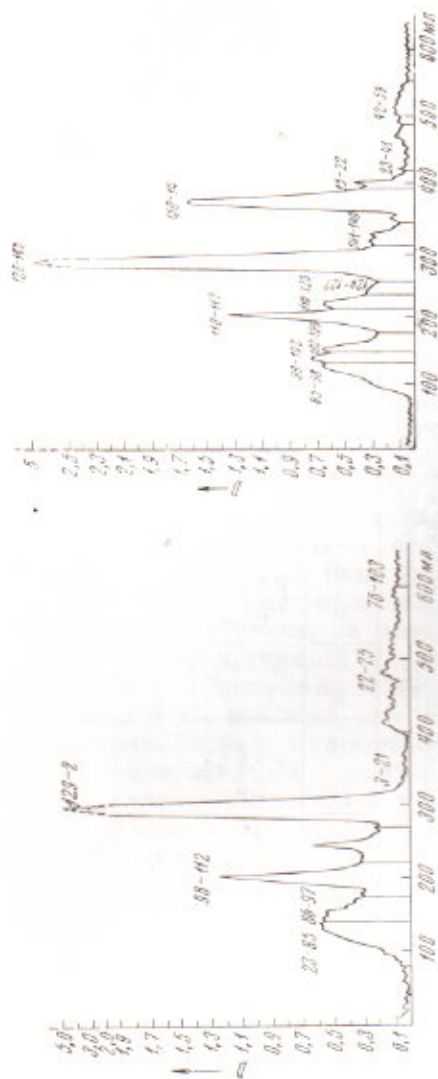


Рис. 3

Рис. 3. Разделение на колонке сефадекса G-15 диализовавшейся части перфузата после 15-минутной ишемии конечности и исследование токсичности выделенных фракций

Фракция	23—85	88—97	98—112	113—128	129—21	22—75	76—103
Белок, мг/мл	7,27	9,54	6,13	9,77	15,44	4,54	5,00
DLM, мг белка	3,89	7,63	0,36	1,96	1,83	0,34	0,25

Рис. 4

Рис. 4. Разделение на колонке сефадекса G-15 диализовавшейся части перфузата после 3-часовой ишемии той же конечности, что и на рис. 3, с последующим титрованием токсичности выделенных фракций

Фракция	85—98	99—102	103—100	110—117	118—123	124—127	128—140	141—149	150—154	15—22	23—41	42—59
Белок, мг/мл	5,00	6,59	10,45	5,23	5,45	4,54	5,91	5,45	6,81	4,54	5,45	4,31
DLM, мг белка	2,36	3,29	1,57	0,26	3,21	1,36	1,77	0,55	2,38	0,68	1,09	0,86

На рис. 1 представлен фракционный состав одного из таких концентрированных диализатов, определенный с помощью молекулярной фильтрации через гель-сефадекс G-15. Как следует из этого протокола, в составе концентрированного диализата есть несколько токсичных для мышей компонентов, из которых наибольшей токсичностью обладает фракция 128—138, выходящая с колонки в объеме от 200 до 300 мл.

В объеме от 100 до 200 мл с колонки выходят несколько сравнительно крупных компонентов с варьирующей токсичностью, возможно обусловленной примесью фракции, выходящей с колонки в объеме от 200 до 300 мл. В объеме от 400 мл и далее с колонки также элюируются несколько токсичных фракций, летальное действие которых на мышей мы склонны объяснять примесью серотонина. Кроме этих токсичных фракций в составе диализата есть несколько компонентов, нетоксичных для белых мышей. Основная часть нетоксичных фракций выходит с колонки в объеме от 300 до 400 мл.

На ту же колонку сефадекса G-15 в специальных опытах наносили очищенные серотонин (Hungary, 67 124 006) и инсулин. Серотонин элюи-

руется с колонки, начиная с объема 400—450 мл, а инсулин в объеме от 300 до 450 мл; последнее позволило определить молекулярный вес основной токсической фракции (ишемического токсина) около 12 000.

Токсический фактор перфузата, выходящий с колонки сефадекса G-15 в объеме около 200 мл, в весьма незначительном количестве выявляется при фракционировании крови, циркулирующей в замкнутой системе АИКа (рис. 2), но основная токсичность в этих случаях определяется не им, а фракциями, выходящими с колонки в объеме после 400 мл и, по-видимому, содержащими серотонин.

В ампутированной конечности, ишемизированной всего лишь в течение 15 мин., ишемический токсин уже четко определяется (рис. 3, фракция 98—112). Одновременно отмечается выраженная токсичность фракций, выходящих в объеме после 400 мл, содержащих серотонин.

После 3 час. ишемии в той же конечности резко увеличивается содержание основной токсической фракции, выходящей с колонки в объеме около 200 мл (рис. 4, фракция 110—117). Прилегающие к пику 110—117 фракции выраженной токсичностью не обладают, а токсичность серотонинсодержащих фракций по сравнению с 15-минутной ишемией резко снижена.

Представленные материалы показывают, что в процессе ишемии в изолированном органе появляются и накапливаются низкомолекулярные токсические вещества. Основное их свойство — способность проходить через полупроницаемую мембрану. Среди этих веществ определенное место, очевидно, занимают серотонинсодержащие компоненты, однако с увеличением срока ишемии их роль в токсикозе падает. Начиная с первых минут прекращения кровообращения, в конечности начинает накапливаться ишемический токсин с молекулярным весом ~12 000. Содержание этого токсина в перфузате возрастает пропорционально весу конечности и увеличивает длительности ишемии органа. Очевидно, появление этого токсина при ишемии связано с процессом интенсивного белкового распада.

Существование такого токсина постулировалось неоднократно⁽⁶⁻⁸⁾. Его роль приписывали калию, гистамину, АТФ и др. В доступной нам литературе мы не обнаружили публикаций о прямом выделении токсина и об изучении его свойств.

Мы полагаем, что обнаруженный нами ишемический токсин закономерно появляется в любом органе, лишенном кровообращения. В борьбе с постинемическими осложнениями этому токсину следует уделять особое внимание.

Лаборатория по пересадке органов и тканей
Академии медицинских наук СССР

Московский институт вакцин и сывороток
им. И. И. Мечникова

Поступило
8 I 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. И. Кузин, Клиника, патогенез и лечение синдрома длительного раздавливания, М., 1959. ² В. М. Кушко, Реакция организма после снятия кровоостанавливающего жгута, Докторская диссертация, М., 1946. ³ А. Г. Ланчинский, Хирургия, № 10, 82 (1954). ⁴ Г. С. Липовецкий, Реплантация конечности в эксперименте, Докторская диссертация, М., 1968. ⁵ Т. М. Оксман, Б. А. Шибанов и др., Матер. I симпозиума по реплантации конечности, М., 1970, стр. 8. ⁶ H. N. Green, Lancet, 2, 147 (1943). ⁷ B. Grabaric, D. Pantelic, Acta physiol. Acad. sci. hung., 31, 267 (1967). ⁸ M. G. Egleton, Lancet, 2, 208 (1944).