

**ÚSTAV HEMATOLOGIE A KREVŇÍ TRANSFÚZE V PRAZE**  
**ČS. LÉKAŘSKÁ SPOLEČNOST J. E. PURKYNĚ**  
Hematologická sekce

# Výroční konference

Ústavu hematologie a krevní transfúze

PRAHA 24. — 25. V. 1962

Šochman J., Nouza K., Jirgl V.:

Některé biochemické metody u hemoblastóz

Autoři sledovali změny v biochemických hodnotách těchto laboratorních testů: aktivitu transaminázy kyseliny glutámové-oxaloctové v séru, laktikodehydrogenázy, hladinu sérových bílkovin a jejich spektrum, Weltmanovu reakci, thymolový zákalový test, Brdičkovu reakci, hladinu kyseliny močové v krvi a její kvantum vylučované močí.

Změny v aktivitách vyšetřovaných enzymů se týkají hlavně LDH, která je zvýšena u většiny případů nemocných s chronickou myelózou. Aktivita transaminázy je u hemoblastóz zvýšena jen u případů s hepatálním postižením. Změny v bílkovinném spektru jsou převážně nespecifického charakteru a vyznačují se hypoalbuminemií s hypogamaglobulinemií. Částečně specifické změny lze prokázat pouze u maligního lymfogranulomu, kde stoupá hladina alfa<sub>2</sub> globulinů. Hodnoty sledovaných jaterních testů nevykazují specifických změn v závislosti na typu hemoblastózy. Brdičkova reakce je zvýšena u většiny sledovaných hemoblastóz, maximální zvýšení lze prokázat v terminálních fázích onemocnění, zvláště vysoké hodnoty jsme zaznamenali u Hodgkinovy choroby s vysokými hladinami haptoglobinu. Hladina kyseliny močové v séru a její vylučovací množství bylo zvýšeno převážně u chronických leukemií obou typů s vysokým počtem leukocytů.

Nouza K.:

Naše zkušenosti s transplantací kostní dřeně v klinice  
a některé experimentální podklady pro řešení této otázky

Na našem oddělení byly provedeny 4 transplantace kostní dřeně. 2 u nemocného s akutní aplastickou anémií, 1 u nemocného s chronickou myelózou s útlumem dřevňovým po cytostaticích, u 1 nemocné s akutní myelózou s těžkou trombocytopenií. Uvedeny výsledky a názory na indikace transplantace dřeně.

V experimentální části jsou navrženy vhodné modely pro studium interakcí organismu zdravého či s útlumem po středně letálním rtg ozáření a transplantované hematopoetické tkáně (dřeně, sleziny). Uvedeny výsledky pokusů u myší inbred A, CBA a C<sub>57</sub> Black kmenů, ozářených středně letálními dávkami rtg záření (450-550 r), léčených homologní dření a slezinou a vliv slezinné, dřevňové a uzlinové tkáně A, CBA a C<sub>57</sub> Black myší na F<sub>1</sub> hybridy uvedených kmenů.

Diskutována vhodnost těchto modelů pro terapeutické testování překonání transplantace reakce proti homologní krvetvorné tkáni u člověka.

Dobry E., Fiala J., Brabec V., Viktora L., Livora J., Šebestík V.:

### Některé zkušenosti s konzervací červených krvinek

V referátě jsou shrnuty výsledky sledování různých metod konzervace krve, které jsme prověřovali a které jsme dosud nepublikovali.

Prošetřili jsme především ty látky, o nichž se v literatuře uvádí, že mají příznivý konzervační účinek. Tak jsme zkoušeli přidávat ke konzervačnímu roztoku vitamin C a B<sub>12</sub>, dále mlečnan sodný a roztoky s vysokým obsahem kaliových iontů. ani v jednom z těchto případů jsme nepotvrdili příznivý účinek těchto konzervačních přísad.

Rovněž byl prošetřen konzervační účín alkoholo-glukoso-citrátového roztoku. Bylo zjištěno, že z konzervačního hlediska neznámená použití alkoholu přínos pro konzervaci erytrocytů.

Při prověřování účinku antihistaminik svědčil testy in vitro pro zlepšenou konzervaci; hodnoty potransfúzního přežívání erytrocytů však při použití fenerganu byly nepříznivé, zatímco přidání našeho antihistaminika Analergin sulfátu neovlivnilo biologickou hodnotu krve ACD.

Byla též věnována pozornost konzervaci krve bez použití anti-koagulancí. Byly získány zkušenosti s defibrinací krve a s odběrem pomocí iontoměniče. Výsledky testů in vitro ukazují na rychlejší hemolýzu než v krvi ACD. Podle výsledků potransfúzního přežívání lze soudit, že tento způsob není vhodný pro dlouhodobou konzervaci.

Pokud se týká konzervace červených krvinek při teplotách pod bodem mrazu, bylo zatím dosaženo příznivých výsledků při konzervaci ve zmrazeném stavu ve vysokomolekulárním prostředí za přidání elektrolytů. Dosavadní výsledky konzervace při nízkých teplotách v tekutém stavu jsou méně uspokojivé.

Novák J., Fiala J., Šutko Š., Vlčková M., Šourek J., Sejkorová J.:

Některé poznatky o vlivu odběru krve na organismus dárce

Jsou uvedeny výsledky sledování vlivu odběru krve na organismus dárce, a to jednak projevů nespecifické reakce po odběru krve, která je dokladem, že odběr působí jako zátěž, jednak změn, které jsou důsledkem vlastní ztráty krve. Takto jsou sledovány změny v hladinách sérového železa, pozdní změny v hladinách krevních bílkovin a některých koagulačních faktorů a změny v hladině pro-perdínu. Výsledky vyšetření krevního obrazu dárců byly použity k statistickému stanovení rozsahu základních fyziologických hodnot červeného a bílého krevního obrazu.

Vopatová M., Vlčková M., Rambousková R., Chrátová Z.:

k otázce metabolismu krevních destiček

Byla sledována respirační a glykolytická aktivita izolovaných destiček, připravených z plné krve, stabilizované různými antikoagulačními roztoky, a suspendovaných v plazmě, solném roztoku a v gelatině. Destičky, suspendované v plazmě, byly vyšetřovány v nativním, zmraženém a lyofilizovaném stavu vždy první, čtvrtý, sedmý a čtrnáctý den skladování.

Z pokusů je patrné, že dochází v průběhu skladování k poklesu obou těchto metabolických aktivit, a to méně v nativních vzorcích suspendovaných v plazmě, více u suspenzí v solném roztoku a v gelatině a nejvíce u zmražených a lyofilizovaných vzorků.

Podobně jako se mění glykolytická aktivita během skladování, dochází ke změně i retrakční schopnosti destiček v těchto suspenzích.

Herzog F., Bohatová J., Drdová A.:

Sérové skupiny Gm a Hp typy. Jejich výskyt v naší populaci  
a praktické využití

Elektroforézou séra ve škrobovém gelu jsme stanovili častost výskytu jednotlivých Hp typů a aglutinačně-inhibičním testem výskyt Gm<sup>a</sup>, Gm<sup>b</sup> a Iny faktorů u naší populace. Průkazem těchto faktorů a typů v soudně lékařské praxi jsme ukázali praktický význam jejich určování.

Kořínek J.:

Průkaz makroglobulinu v krevních sérech  
filtrační elektroforesou

Vypracovali jsme metodu elektroforesy sérových bílkovin v 1,5 % agarovém gelu Difco s použitím kruhových filtrů z 5 % agaru, zařazených do dráhy putujících globulinů. Zjistili jsme, že beta-2-globulin vysokomolekulární a patologické makroglobuliny jsou filtrem zadrženy, zatímco gamaglobulin normální i patologický, na příklad myelomový, filtrem procházejí. Touto metodou lze odlišit beta 2 A globulin od beta 2 M globulinu shodné elektroforetické pohyblivosti, na základě jejich rozdílné molekulární váhy. Navržená metoda je vhodná jako screening test pro třídění patologických, zejména myelomových, sér určených k sedimentační analýze pomocí ultracentrifugy.



Kout M., Kubíčková Z., Kyselová V.:

Srovnávací práce průkazu leukocytárních isoprotilátek  
několika testy

S cílem porovnat výsledky získané různou technikou průkazu isoprotilátek proti leukocytům jsme vyšetřili séra od 205 nemocných převážně s krevními chorobami a transfúzní anamnézou. Jako techniky průkazu protilátek jsme použili test přímé aglutinace, precipitace v ageru, pasivní hemaglutinace, konzumce antiglobulinového séra a deviace komplementu. Nejčastěji pozitivním testem byla pasivní hemaglutinace a nejméně test precipitace. Ačkoliv jsme odhalili protilátky ve více než 50 % vyšetřovaných nemocných, souhlasné výsledky několika testy byly málo časté. Z výsledků vyplývá zejména odlišný charakter antigen-protilátkových reakcí v tom kterém testu a nutnost použít více metodik k průkazu leukoprotilátek.

Májský A., Ziková R.:

Některé poznatky  
o destičkových iso- a heteroantigenech

Byl studován účinek rivanolu, trypaflavinu, atebrinu a kyselého natrium-citrátu na destičkové heteroantigeny a jejich reakci s králičími imunními tromboaglutininu a trombolysiny. Zpracování lidských destiček těmito chemickými látkami zvyšuje aglutinabilitu jejich heteroantigenů. Možnost průkazu králičích trombolysinů není tím snížena. Účinek chemické látky na destičky závisí na koncentraci jejího roztoku.

Dále byla studována otázka, do jaké míry má zpracování destiček těmito chemickými látkami vliv na reakci jejich isoantigenů s lidskými destičkovými protilátkami.

Terapie experimentálního šoku náhradními roztoky krevní  
plasmy se zvláštním zřetelem na dextran a heteroplasmu

V jedné z našich prací (Štěrba a spol. 1959) bylo zjištěno, že pokusně vypracované standardní patologické modely ke stanovení účinnosti transfúzní terapie dávají možnost spolehlivě určovat léčebný účinek krve a náhradních roztoků krevní plasmy v jednotlivých fázích krvácení a posthemoragické hypotense.

Předložená experimentální práce sleduje otázky terapeutického významu náhradních látek čs. původu v léčbě akutního krvácení za použití zmíněného modelu. Ukázalo se, že čs. dextran středně- i vysokomolekulární, event. v polyiontovém fyziologickém roztoku, stejně jako čs. heteroplasma se svým účinkem blíží v určitých stavech efektu podání vlastní plasmy a lze tedy tyto preparáty řadit mezi vysoce kvalitní náhradní roztoky.

Poznátky získané jedním z nás (Hořejší) při studiu otázek přenosu kyslíku krví a skutečnost, že zvýšením obsahu GSH lze docílit posunutí disociační křivky do prava, nám byly v další pracovní etapě podnětem k pokusům, ve kterých jsme zjišťovali, zda určité zvýšení obsahu této látky v krvi by se projevilo příznivým léčebným účinkem tam, kde je sníženo množství hemoglobinu v krvi. Dosevední pokusné výsledky naznačují, že obohacení transfundované krve, dextranu a heteroplasmy vhodným množstvím redukovaného glutathionu výrazně ovlivňuje přežívání pokusných zvířat, podrobených těžkým krevním ztrátám, ve srovnání se zvířaty kontrolními.

Paluska E., Jozová O., Ježková Z., Zmeškalová D.:

Pokusná studie o antigenních vlastnostech  
čs. "despecifikované" hovězí plasmy

Byl vypracován způsob sensibilizace pokusných králíků československou "despecifikovanou" hovězí plasmou, který v jejich séru vyvolává optimální tvorbu protilátek, prokazatelných metodou dvojité difuze podle Ouchterlonyho. Touto metodou byly zjištěny protilátky do titru až 1 : 2.000, a to jak proti despecifikované, tak i proti normální hovězí plasmě, za vzniku až tří precipitačních linií, jejichž mobilita je sledována imunoelektroforeticky.

Protilátky prokázány také metodou pasivní hemaglutinace a vazbou komplementu a zjištěno, že jejich vzestup i pokles je při průkazu všemi třemi způsoby ve vzájemné korelaci.

Antigenita prokázaná zkouškami *in vitro* byla potvrzena v pokusech na zvířatech (morče, bílá myš), u nichž v určitém procentu byla vyvolána anafylaktická reakce.

Popsána aplikace čs. "despecifikované" plasmy většímu počtu pacientů s psychiatrickou diagnózou, u kterých ani po opakovaném podávání nedošlo k závažným klinickým projevům, přestože v sérech některých z nich byly protilátky v nízkých titrech prokázány.

Motyčka K., Souček J., Šochman J.:

Sledování biologického účinku některých 4-aminanalogů kyseliny listové u normálních a leukemických myší

Autoři jsou členy pracovní skupiny, zabývající se studiem antimetabolitů kyseliny listové. V tomto sdělení vycházejí z výsledků svých předchozích prací, v nichž se zabývali možností zvratu toxicity aminopterinu a jeho některých derivátů podáním kyseliny listové nebo některých přirozených metabolitů této látky. V další fázi práce stanovili toxicitu 3'5'-dibromderivátů aminopterinu a methylentetrahydroaminopterinu a zjistili, že v porovnání s toxicitou aminopterinu je o dva řády nižší. Dále určovali stupeň inhibice hydrogenázy kyseliny listové po podání antimetabolitů kyseliny listové myším a nenalezli shodu mezi inhibicí tohoto enzymu jednotlivými antimetabolity a jejich toxickým působením. Tato inhibice nebyla ovlivnitelná ani podáním kyseliny listové nebo leukovrinu. Některé biochemicky a biologicky zkušované bromované i nebromované deriváty aminopterinu byly otestovány na radiací vyvolané leukemii LaH VÚFB u myší C 57 Black. Příznivý terapeutický efekt byl prokázán pouze u 3'5'-dibrommethylentetrahydroaminopterinu. Upřesnění a doplnění dosažených výsledků je cílem další práce.

Slavíková V., Slavík K., Souček J.:

Vliv 4-aminoanalogů kyseliny listové na biosyntézu  
nižších složek nukleových kyselin

Byl studován vliv některých 4-aminoanalogů koenzymově účinných derivátů kyseliny listové na transformylační reakce, účastnící se v biosyntéze purinového kruhu a methylové skupiny kyseliny thymidylové. Bylo nalezeno, že žádný ze studovaných 4-aminoanalogů nejeví podstatný inhibiční účinek na vestavování  $^{14}\text{C}$  značené kyseliny mravenčí do kyseliny inosinové. 4-aminoanalogy s hydrogеноveným pyrazinovým kruhem (tetrahydroaminopterin a jeho formyl-deriváty) jevíly dokonce výrazný aktivační účinek. Podrobnějším studiem bylo prokázáno, že tyto látky dovedou zastoupit přirozený koenzym v transformylačních reakcích. Obdobná funkce arteficiálního koenzymu byla prokázána i u 3',5'-dibromtetrahydroaminopterinu a jeho derivátů. Studiem distribuce isotopů mezi atomem  $\text{C}_2$  a  $\text{C}_8$  vytvořené kyseliny inosinové bylo prokázáno, že 4-aminoanalogy se účastní jak formylace glycinamidribotidu, tak aminimidazolkarboxamidribotidu. Možnost přeměny 4-aminoanalogů v deriváty kyseliny listové byla vyloučena chromatografickou analýsou radioaktivních koenzymů, syntetizovaných v uvedené soustavě.

Biosyntéza methylové skupiny thyminu, probíhající v krysích thymech, byla podstatně inhibována pouze 4-aminoanalogem přirozeného koenzymu - kyselinou  $\text{N}^{5-10}$ -methylentetrahydrolistovou. Ostatní zkoušené antimetabolity jevíly jen velmi slabý inhibiční účinek, nebo byly zcela neúčinné.

Hydrogenáza z krysích thymů (redukuující kyselinu listovou a dihydrolistovou na její tetrahydroderivát), o níž se předpokládalo, že se účastní též redukce hydroxymethylové skupiny kyseliny desoxyuridylové na methylovou (tedy v podstatě biosyntézy methylové skupiny thyminu), byla zkoušenými antimetabolity bržděna zcela stejně jako jaterní hydrogenáza.

O významu basických skupin ve struktuře lidského hemoglobinu

Zatímco primární struktura i konformace molekuly hemoglobinu jsou prakticky vyřešené, způsob vzájemné vazby jednotlivých polypeptidických řetězců a jejich spojení s hemovou prostetickou skupinou je dosud stále nejasný.

Jedním ze způsobů, kterým je možno získat informaci o účasti určitých skupin molekuly na této vazbě, je studium jejich modifikací a interakcí.

Byla použita především fotooxydace, při níž dochází k destrukci aromatických a heterocyklických aminokyselin. Ze srovnání průběhu fotooxydace hemoglobinu a globinu vyplývá, že čtyři imidazolové skupiny zůstávají v molekule hemoglobinu zachovány; toto zjištění je v soulase s obecně přijímaným názorem na účast histidinu ve vazbě globinu s hemem.

Při účinku acetanhydridu a ketenu na hemoglobin a globin v mírně kyselém prostředí dochází k acetylaci aminoskupin a alifatických hydroxylů. Průběh acetylace těchto skupin a vlastnosti vzniklých produktů nasvědčují tomu, že v molekule hemoglobinu je jen asi 20 zcela volných aminoskupin. Jejich acetylací dojde k takové změně konformace molekuly, že se stanou reaktivní i zbylé aminoskupiny, v nativní bílkovině méně reaktivní.

Interakce bílkovin s protonem závisí především na počtu disociovatelných skupin a na změnách konformace molekuly. Z rozboru titrační křivky hemoglobinu vyplývá, že v kyselé i alkalické oblasti dochází ke značným změnám elektrostatického interakčního faktoru, což je ve shodě se štěpením hemoglobinové molekuly v pH mimo neutrální oblast. Lepší shody elektrostatického interakčního faktoru s teoreticky vypočtenými a vnitřními disociačními konstantami některých skupin s obvykle uváděnými hodnotami u ostatních bílkovin je dosaženo za předpokladu, že štěpení hemoglobinu je doprovázeno postupným uvolňováním osmi až deseti basických skupin, pravděpodobně  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> skupin. Tyto skupiny, v nativní bílkovině vazbou mezi jednotlivými řetězci resp. vazbou s hemem blokované, se při štěpení molekuly uvolňují a stávají se tak schopnými disociace.

Na základě pokusů s fotooxydativní destrukcí imidazolových jader, acetylacei hemoglobinu a globinu a interakcí s protonem je pak diskutován význam basicých skupin ve stavbě hemoglobinové molekuly.



Lacko L.:

Interakce disacharidů s přenášečím systémem aldosa  
v lidských erytrocytech

Novou filtrační metodou oddělení erytrocytů od media bylo pozorováno, že při 0°C je vstup monosacharidů do erytrocytů cukru prostých silně potlačen. Při téže teplotě však vstupuje do erytrocytů značné množství některých aldosa výměnou za jiný cukr, který současně z erytrocytů vystupuje.

Použitím výměnného mechanismu bylo zjištěno, že některé aldosa se účastní výměnného transferu, jiné nikoliv. Aldosa, které nahrazují glukosu vystupující z erytrocytů a které tudíž používají společného přenášečího systému, patří k homomorfním řadám s L-arabo, D-xylo a D-lyxo konfigurací. Aldosa patřící k homomorfním řadám s D-arabo, D-ribo a L-lyxo konfigurací nevstupují do erytrocytů společným přenášečím systémem.

Některé disacharidy mají též afinitu k přenášečímu systému aldosa a inhibují tedy výměnný transfer glukosa a galaktosa. Zajímavé je, že disacharidy složené ze 2 glukosových jednotek vykazují různou afinitu k přenášečímu systému. Jejich afinita klesá v řadě maltosa, cellobiosa, isomaltosa, trehalosa. Poslední, jakož i laktosa a sacharosa nemají žádný inhibiční efekt na výměnný transfer glukosa a galaktosa.

Ze zkoušených disacharidů jen redukující mají afinitu k přenášečímu systému, což svědčí o důležitosti redukující skupiny a redukující jednotky při vazbě disacharidů na přenášečí systém. Významná pro afinitu je též povaha glykosidické vazby mezi jednotkami tvořícími disacharid a konformace neredukující jednotky disacharidů.

Mirčevová L., Vosyková J.:

K některým otázkám krebsova cyklu v lidských erythrocytech

V lidských erythrocytech byla sledována tvorba kyseliny citronové z různých substrátů, zejména z fumarátu a oxalacetátu. Tvorba kyseliny citronové byla prokázána pouze v nezralých erythrocytech, v zralých lidských erythrocytech nedošlo k žádné tvorbě kyseliny citronové z uvedených substrátů. V lidských erythrocytech byla dále studována přeměna kyseliny citronové na kyselinu alfa-ketoglutarovou a bylo prokázáno, že tato přeměna probíhá i ve zralých erythrocytech. Byla rovněž studována utilizace kyseliny alfa-ketoglutarové v zralých lidských erythrocytech. Bylo zjištěno, že tato utilizace se zvyšuje v přítomnosti arsenitanu,  $\text{Cd}^{++}$  iontů, alaninu, kyseliny asparagové a glutaminu.  $\text{NH}_4^+$  ionty, kyselina glutamová a isonikotinyhydrazid inhibují utilizaci kyseliny alfa-ketoglutarové v erythrocytech. Dále bylo zjištěno, že přísávek kyseliny alfa-ketoglutarové neovlivňuje v měřitelné míře výdej  $\text{CO}_2$  a spotřebu  $\text{O}_2$ .

Na základě uvedených výsledků lze proto soudit, že i v zralých lidských erythrocytech je aktivní akonitáza, dehydrogenáza kyseliny isocitronové, dekarboxyláza kyseliny oxalantarové a transeminázy. V erythrocytech nebyl prokázán kondensační enzym a dehydrogenáza kyseliny alfa-ketoglutarové.

Bednařík T., Rejnek J., Knesslová V.:

Příspěvek ke studiu prostupu bílkovin z mateřského do  
fetálního oběhu

Pomocí různých analytických metod byl studován v terminálním stadiu březosti průstup některých homologních a heterologních sérových bílkovin značených  $^{131}\text{I}$  z mateřského do fetálního oběhu králíka a do některých orgánů fetu. Bylo zjištěno, že všechny sledované bílkoviny, t.j. lidský gamaglobulin, lidský a králičí albumin přecházejí v relativně značném množství a imunochemicky nepozměněném stavu do fetálního oběhu a rovněž do intersticia fetálních jater, ledvin a plic. Studium odbourávání podaných bílkovin během prostupu ukázalo, že v mateřském séru a placentární intersticiální a intracelulární tekutině nedochází k významnější degradaci. Naproti tomu značný podíl radioaktivity příslušející nebílkovinné složce byl zjištěn ve fetálním séru, amniové tekutině a především pak v obsahu fetálního žaludku, kde byla digesce bílkovin prokázána m.j. i přímo radioimunoelektroforeticky. Z hlediska možných cest prostupu lze z dosažených výsledků činit závěr, že intestinálním traktem fetu přecházejí do fetálního oběhu bílkoviny ve formě fragmentů, které jsou nepochybně využity k výstavbě vlastních bílkovin plodu. K pasáži neporušených bílkovinných molekul z mateřského krevního řečiště pak dochází pravděpodobně placentou. Tyto otázky jsou předmětem studií prováděných pomocí biosynteticky  $\text{S}^{35}$  značených bílkovin v současné době.

Rejnek J., Bednařík T., Knesslová V.:

Studium osudu heterologních bílkovin v organismu krysy

Byl studován osud králičího, biosynteticky značeného  $S^{35}$  albuminu a  $S^{35}$  gamaglobulinu po intraperitoneální aplikaci krysám, a to v séru a v intersticiální a intracelulární tekutině jater, po dobu 4 dnů po aplikaci. Ukázalo se, že během sledovaného období dochází ke katabolismu podané bílkoviny a nálezu radioaktivity v jednotlivých frakcích krysího séra, že však specifické precipitáty těchto bílkovin, jak prokázala radioimuno-elektroforese, s výjimkou jediné alfa globulinové frakce, radioaktivitu neobsahují. Vysvětlení tohoto zjevu dosud nalezeno nebylo, zdá se však, že elektroforetičky homogenní bílkovinné frakce mohou obsahovat část molekul s odlišnou antigenní strukturou, které neposkytují normální precipitační reakci.

Toto vysvětlení podporují výsledky chromatografického studia albuminu, při kterém byla zjištěna existence albuminu normálně migrujícího při elektroforese, který však poskytoval jen velmi nezřetelnou precipitační reakci.

Ze sledování orgánových tekutin lze pak soudit, že do intersticia jater dostávají se podané bílkoviny pravděpodobně až z krevního oběhu, a to jednak nepozměněné, jednak ve formě katabolitů; v intracelulární tekutině se je nepodařilo prokázat vůbec.

Význam jednotlivých tromboplastických faktorů pro tvorbu krevního tromboplastinu

Přeměna protrombinu v trombin v krvi je u člověka a vyšších obratlovců velmi složitý proces, probíhající za spoluúčasti antihe-mofilického globulinu, faktoru IX, faktoru V, faktoru X, Hagema-nova faktoru, F.T.A., destičkového tromboplastického faktoru 3 a kalcia. Zatím není zcela prokázáno, zda uvedené koagulační fakto-ry vytvářejí přesně definovaný komplex (lipo-kalcio-protein), ane-bo zda v průběhu tzv. tvorby krevního tromboplastinu vzniká více menších komplexů, které pak působí na molekulu protrombinu. U niž-ších obratlovců (ptáci, plazi, obojživelníci) se nám nepodařilo zjistit aktivitu obdobnou krevnímu tromboplastinu člověka a savců. Přitom však protrombin těchto živočišných druhů se mění v trombin za přítomnosti lidského krevního tromboplastinu. Postavení tvorby krevního tromboplastinu ve fylogenese hemostázy není zatím jasné, i když z některých skutečností lze soudit, že u nižších obratlovců důležitější úlohu hrají faktory cévní a tkáňové.

Důležitý význam pro rychlost tvorby krevního tromboplastinu má trombin, který i v kontaktu neaktivovaném systému výrazně urych-luje vznik protrombin-konverzní aktivity v kompletním tromboplas-tickém systému. Je zajímavé, že trombinem lze zkrátit prodlouženou pomalou fází tvorby krevního tromboplastinu též v případech léčby Felentanem, u některých nejasných krvácivých stavů aj. Mechanismus účinku trombinu není vyjasněn.

Pro uchování plné koagulační aktivity krevního tromboplastinu je nezbytná přítomnost kalciových iontů. Dekalcinace tromboplastické směsi citrátem anebo oxalátem sodným způsobuje značný úbytek pů-vodní aktivity, která se nedá obnovit opětnou rekalciфикаcí. Jsou při tom rozdíly mezi oběma použitými dekalciфикаčními látkami. Přítomnost kalcia je rovněž nutno zachovat při všech pokusech o isola-ci krevního tromboplastinu, i když dosavadní pokusy v tomto směru byly málo úspěšné.

Dále budou probrány některé otázky tvorby inkompletních komplexů, vztah krevního tromboplastinu k protrombinu a jejich kvantitativní vztahy.

Rybák M., Petáková M.:

Studium fibrinolytického systému lidské plasmy

Preparát částečně čištěného lidského plasminu, aktivovaný streptokinázou a používaný spolu s heparinem k trombolytickým účelům, byl frakcionován na DEAE-celulose. Bylo získáno několik fibrinolytických, kaseinolytických a esterolytických účinných frakcí, u kterých byly sledovány některé vlastnosti: bílkovinné složení pomocí imunoelktroforézy a precipitace v agaru, aktivační účinek na tromboplastin, přítomnost volné streptokinázy a specifická inhibice některými inhibitory proteáz.

Z výsledků plyne, že v lidském séru jsou přítomny minimálně 3-4 fibrinolysiny, lišící se svou lokalizací při frakcionaci na modifikované celulóze, chováním při imunoelktroforese a precipitaci v agaru. Do jisté míry lze tyto fibrinolysiny odlišit též specifickou inhibicí. Všechny fibrinolytické účinné frakce měly aktivační účinek na tromboplastin. Přítomnost streptokinázy v preparátu lze zjistit jednak frakcionací na DEAE-celulose a jednak precipitací v agaru proti antistreptokinázovému-králíčímu séru.

Byla studována reakce plasmin-substrát-inhibitor a byly získány některé údaje o kinetice reakce a disociaci komplexu plasmin-inhibitor.

Fřistoupil T.I., Fričová V., Syrový I., Hrubá A.:

Některé chemické a fyzikálněchemické vlastnosti modifikovaných bílkovin Heteroplasmy

Při výzkumu náhradního transfúzního roztoku Heteroplasma ze zvířecí plasmy, bylo třeba věnovat značnou pozornost sledování různých chemických, biochemických a fyzikálněchemických vlastností sérových bílkovin, modifikovaných účinkem tepla, formaldehydu a peroxydu vodíku.

Důležité informace v tomto směru poskytla řada pokusných metodik : papírová elektroforesa, vysolování, studium pH-stability, studium monomolekulárních filmů, optická rotace, viskosita, papírová chromatografie totálních hydrolyzátů bílkovin, studium charakteristických reaktivních skupin, sledování vazby formaldehydu, rychlost a stupeň enzymatického štěpení, frakcionace na DEAE celulóse.

Pokusy byly většinou prováděny s modifikovaným celým sérem, ale též s albuminem a s modelovanými aminokyselinami a byly studovány změny, které nastaly v průběhu modifikace bílkovin za různých reakčních podmínek.

Výsledky těchto pokusů pomohly ječnak konkretizovat představy o povaze vyvojevého transfúzního preparátu Heteroplasma a dále pomáhají při určování směru další výzkumné práce.

V souvislosti s otázkami stability preparátu Heteroplasma při dlouhém skladování byla sledována zejména viskosita a tvorba zákalu.

Nikl J., Lehký T., Zmeškalová D.:

### Metabolismus Heteroplasmy

Studium nutritivní hodnoty Heteroplasmy bylo prováděno sledováním váhových změn na bílých krysách. Nejlépe se osvědčila subkutánní aplikace preparátu v přítomnosti hyaluronidázy. Jednotlivé preparáty byly porovnávány podle empirického vzorce

$$N_h = \frac{1+A}{1+B} .$$

Nejvýraznějších výsledků bylo dosaženo obohacením Heteroplasmy kaseinovým hydrolyzátem.

Zahraniční preparáty jako Rescorba, oxypolyželatina vykazují velmi nízkou hodnotu.

Nutritivní hodnota Heteroplasmy fortifikované proteolzátem se dále zvýšila přidáním některých biologicky aktivních látek, zvláště testosteronpropionátu s biotinem, nebo pyridoxinem a nebo nikotinamidem. Menšího účinku bylo dosaženo aplikací riboflavinu, biotinu, pyridoxinu a vitamínu B<sub>12</sub>.

Stanovením dusíkové bilance na krysách při aplikaci Heteroplasmy se ukázalo, že preparát je organismem metabolizován a vyloučen močí ve značné míře jako amoniak a dále ve formě močoviny.

Eliminace Heteroplasmy z krevního řečiště nastává asi za 72 hodin.

V exsanguinečních pokusech byl zjištěn příznivý vliv solí Tyrodova roztoku, přidávaných do Heteroplasmy, na přežívání pokusných zvířat. Rovněž byl zjištěn velmi příznivý vliv redukováného glutathionu s Heteroplasmy na přežívání exsanguinovaných zvířat při nízkých hodnotách hematokritu.

V dlouhodobých pokusech, kdy Heteroplasma je aplikována krysám v opakovaných sériích s různě dlouhými intervaly, je zjišťována míra zkušenosti organismu s preparátem.