

разом, слюноотделительный рефлекс передается не только слюнной железой, а также потовым железом области иннервации ушно-височного нерва. Обычно латентный период ушно-височного синдрома с момента повреждения совпадает с периодом регенерации нервных волокон и равняется 1—3 месяцам.

УДК 616.28—616—094

К. Д. Степанов (Казань). Удаление личинок Вольфартовой мухи из уха при помощи хлорофоса

В сельской местности юго-востока Татарии изредка встречаются случаи паразитирования личинок мух в ушном канале человека. Это обычно личинки Вольфартовой мухи (К. Д. Степанов и В. А. Бойко, 1959).

Меры борьбы с этим опасным паразитом сводятся к удалению личинок из уха пинцетом, промыванию хлороформной водой. Личинки чувствительны также к серному эфиру и креолину (Е. Н. Павловский, 1934). Мы применили 1% раствор очищенного хлорофоса, который малотоксичен для теплокровных животных, токсичен для комнатных мух и обладает широким диапазоном действия на различных насекомых (Е. С. Калмыков, 1959; И. Д. Неклесова, 1958).

25 июля девочка 10 лет спала на открытом воздухе, а 27 июля у нее появились очень сильные боли в правом ухе и начали выползать из него «белые черви». В тот же день больная была доставлена в местную больницу. Извлечь пинцетом всех личинок не удавалось, так как они держатся за ткани хозяина ротовыми крючками и множеством шипиков, расположенных по всему их телу. После закапывания в ухо 6 капель 1% раствора очищенного хлорофоса личинки через 3 мин погибли и были легко удалены пинцетом (4 личинки Вольфартовой мухи).

ОБЗОРЫ

УДК 616.151.5

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Д. М. Зубаиров

Кафедра биологической химии (зав. — доктор мед. наук Д. М. Зубаиров)
Казанского ордена Трудового Красного Знамени медицинского института

Проблема свертывания крови одинаково интересна для биохимика и врача. Предполагается, что свертывание крови играет решающую роль как при некоторых геморагических диатезах, так при тромбозах и борьбе с ними. Непосвященных пугает та путаница понятий, которая встречается при чтении специальной литературы. Кроме номенклатурных лабиринтов, которые были достаточно запутанными уже в 1940 г. (Вёлиш), современная путаница происходит в связи с недостаточным пониманием некоторыми авторами механизма свертывания крови.

Между истечением крови и внешней простотой появления сгустка лежит длительный процесс скрытого развития. В крови есть не только факторы свертывания, которые начинают, ускоряют, завершают процесс, но и ряд предохранительных приспособлений, ограничивающих свертывание внутри сосудов и растворяющих фибрин.

Главная трудность в исследовании этой проблемы — чрезвычайная ограниченность доступного подхода. Образование фибрина — это единственный феномен, который адекватно может быть использован при экспериментах, за исключением агглютинации тромбоцитов и разложения некоторых искусственных субстратов, пока нет другого физического или химического изменения, которое использовалось бы при изучении свертывания. Все, что известно о гемокоагуляции, получено при наблюдении за образованием фибрина.

Теперь установлено, что полимеризация мономеров фибрина является концом длинной цепи реакций, в которой каждое звено может быть изучено лишь по его действию на конечное сочленение. Чем дальше удалено изучаемое звено от конечного, тем более косвенной будет информация о нем.

В основе всех современных представлений лежит ферментативная теория А. А. Шмидта, которая схематически состоит в следующем:

I фаза Протромбин $\xrightarrow{\text{Тромбокиназа, Са}^{++}}$ Тромбин

II фаза Фибриноген $\xrightarrow{\text{Тромбин}}$ Фибрин

До 1935 г. из этих факторов количественно удавалось определять лишь Са, фибрин, фибриноген, а также менее точно и тромбин. Большой заслугой Арманда Квика явился предложенный им метод количественного определения протромбина. Заключается он в следующем. При физиологической концентрации фибриногена в крови добавление к ней Са и тромбокиназы из мозговой ткани дает ускорение свертывания. Максимум этого ускорения лимитируется количеством протромбина. Таким образом, продолжительность свертывания крови или плазмы при добавлении к ним оптимальных количеств Са и тромбокиназы может служить мерой протромбина. Подобный принцип создания оптимальных концентраций всех факторов, кроме испытуемого, лежит в основе определения и вновь открытых факторов свертывания.

И вот с 60-х годов прошлого века до 1945 г. исследования велись вокруг этих компонентов системы гемокоагуляции. Однако, как это часто бывает, природа оказалась более удачливым экспериментатором, чем исследователи, хотя они тоже, пользуясь методикой Квика, сумели установить, что для биосинтеза протромбина в печени необходим витамин К.

В 1945 г. Оурен описал больного геморрагическим диатезом, у которого все названные факторы свертывания были в достатке, но протромбин медленно превращался в тромбин. Исследование этого и некоторых аналогичных больных привело к открытию лабильного акцелератор-глобулина. Затем за короткое время до 1955 г. был открыт еще ряд факторов, которые, согласно классификации международной комиссии, пронумерованы римскими цифрами (табл. 1).

Таблица 1

Факторы свертывания крови и коагулопатии, вызываемые их недостатком

Фактор	Синонимы	Врожденный недостаток	Приобретенные недостатки
I	Фибриноген	Афибриногенемия (афибриногеническая пурпура)	Внутрисосудистое свертывание, гиперфибринолиз, поражения паренхимы печени
II	Протромбин	Идиопатическая гипопротромбинемия	Геморрагический диатез новорожденных, К-авитаминоз, непрямые антикоагулянты, поражения паренхимы печени
III	Тромбокиназа, тромбопластин (тканевой)	—	—
IV	Кальций	—	—
V	Акцелератор-глобулин, лабильный фактор	Парагемофилия	Поражения паренхимы печени, внутрисосудистое свертывание, гиперфибринолиз
VI	Не применяется	—	—
VII	Проконвертин, аутопротромбин II	Гипоконвертинемия	Поражения паренхимы печени, К-авитаминоз, непрямые антикоагулянты (дикумарин и др.)
VIII	Антигемофилический глобулин	Гемофилия А	Внутрисосудистое свертывание, гиперфибринолиз
IX	Кристалмас-фактор, аутопротромбин II	Гемофилия В	Поражения паренхимы печени, К-авитаминоз, непрямые антикоагулянты
X	Фактор Стюарт-Проуэра, тромботропин	Врожденный недостаток фактора X	Поражения паренхимы печени, К-авитаминоз, непрямые антикоагулянты
XI	Предшественник тромбопластина плазмы	Гемофилия С	—
XII	Фактор Хагемана	Гемофилия Д	—
XIII	Фибрин-стабилизирующий фактор	Врожденный недостаток фибрин-стабилизирующего фактора	—

Что дало открытие такого большого количества факторов?

Прежде всего то, что, кроме тканевой тромбокиназы (синонимы: тканевой тромбопластин, тканевой активатор протромбина, внешняя активирующая система), активатор протромбина может возникнуть из составных частей самой крови путем образования кровяной тромбокиназы (синонимы: кровяной или плазменный тромбопластин, внутренняя активирующая система).

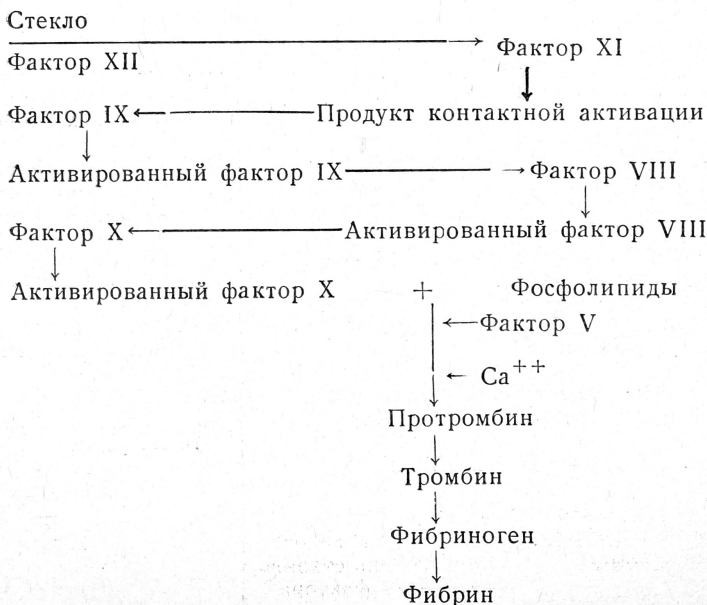
В настоящее время существует чрезвычайно много разнообразных воззрений на свертывание крови. Однако можно выделить два основных направления в изучении биохимии этого процесса. Согласно одному из них, кстати, более распространенному и имеющему большее число приверженцев, свертывание крови — цепной процесс. Номера, установленные международным комитетом, соответствуют дате открытия, а не последовательности, в которой факторы участвуют в процессе свертывания. Например, фибриноген, участвующий в конце свертывания, получил номер I, потому что он был открыт первым, а фактор Хагемана, с активации которого начинается весь процесс, напротив, — номер XII. Нумерованы лишь «кирпичики» свертывания, а не продукты их превращения (например, тромбин или фибрин).

Согласно этой точке зрения, цепной процесс образования кровяного тромбопластина начинается с активации фактора Хагемана (фактора XII) под воздействием контакта с чужеродной поверхностью. Во всех руководствах по гематологии, биохимии и физиологии под чужеродностью подразумевается смачиваемость. Считается, что эндотелий кровеносных сосудов не смачивается, а при истечении крови в результате ранения он приходит в контакт со смачиваемой поверхностью и это активирует фактор XII. Мы совместно с В. Н. Тимербаевым и А. Н. Репейковым установили, что такая точка зрения не соответствует действительности. Неповрежденный эндотелий кровеносных сосудов прекрасно смачивается, что было доказано при измерении углов смачивания. Во второй половине прошлого столетия Фрейнд выдвинул положение о несмачиваемости эндотелия, и с тех пор оно без проверки, как несомненный факт, переписывалось одним автором у другого.

Тем не менее, свертывание крови начинается с контактной активации фактора XII. Это белок, глобулин. Активен в адсорбированном состоянии, например на стекле. Со стекла может быть элюирован при pH от 9 до 11. Активное начало сейчас пытаются получить в очищенной форме в нескольких лабораториях. Оно блокируется ДФФ (диизопропилфторфосфатом), разлагает некоторые синтетические субстраты, которые разлагаются трипсином, тромбином и плазмином. Чрезвычайно интересно, что, кроме активации свертывания крови, активный, т. е. адсорбированный фактор XII ведет к образованию плазма-кининов. Это полипептиды, которые раздражают болевые рецепторы, вызывают сокращение гладких мышц, влияют на деятельность сердца и проницаемость капилляров. Притом действуют они в концентрациях, которые на несколько порядков ниже, чем концентрации таких признанных медиаторов, как ацетилхолин, адреналин, гистамин и серотонин. Ниже приводится схема свертывания крови, составленная по данным исследований Биггс и Макфарлана, Марголиса, Ратнофа и Деви, Папахадипоулоса и Ханахана, Лундблада и Деви (табл. 2).

Таблица 2

Схема цепного процесса свертывания крови



На всех этапах свертывания необходимо участие ионов Са. Исключение составляют лишь первый этап образования продукта контактной активации и заключительный — действие тромбина на фибриноген. По этой схеме процесс свертывания представляет собой длинную цепь превращений разных факторов, которая может быть значительно укорочена, если свертывание протекает в поврежденных тканях. В последнем случае активация фактора X осуществляется непосредственно тканевым соком.

Согласно другой гипотезе, которая развивается главным образом Сигерсом, протромбин является центральной молекулой в механизме свертывания крови. Его концентрация в человеческой плазме составляет 10—15 мг на 100 мл, молекулярный вес — 68 900, содержит все известные аминокислоты с более высокой пропорцией глютаминовой, аспарагиновой кислот, аргинина и лейцина. Также содержит углеводы (глюкозу), аминоксахара, нейраминовую кислоту. N-концевой аминокислотой является аланин (Миллер; К. И. Коткова, Н. Н. Орловская, А. Л. Лосева и З. Фабри), а C-концевыми — тирозин и глицин (Сигерс). Большая часть углеводов не обязательна для процесса активации.

Сигерс утверждает, что при самопроизвольной активации протромбина образуется тромбин, который затем сам активирует превращение протромбина в тромбин. Если активация протекает при воздействии тканевого сока, то, кроме молекулы тромбина, имеющей молекулярный вес 33700, одновременно с той же скоростью образуется второй фермент, аутопротромбин С, имеющий молекулярный вес 24000. Если данные подтверждаются, то это будет первый пример в энзимологии, когда из одной молекулы фермента происходят два разных фермента. Роль аутопротромбина С состоит в активировании протромбина. Другие авторы описывают активное начало, подобное аутопротромбину С под названием промежуточный продукт I (Спет), который получается при активации фактора X.

Если представить себе молекулу протромбина в виде некоей корпускулы (рис. 1), то она должна состоять из нескольких частей.

При активации протромбина исчезает N-концевой аланин и появляется новая N-концевая аминокислота; это или глютаминовая кислота (Сигерс), или треонин (Миллер). Согласно обоим источникам, новые концевые аминокислоты связаны с тромбином. Положение N-концевого аланина в субъектиничах приведенной схемы протромбина неизвестно.

Роль фактора V, по данным Сигерса, состоит в том, что он регулирует аутокаталитическое действие тромбина и аутопротромбина С, определяя место их действия. В его отсутствии происходит деградация молекулы протромбина без образования тромбина.

Факторы VII, IX и X, по мнению Сигерса, возникают тоже из материнской молекулы протромбина, а геморрагические расстройства, вызванные их недостатком, являются патологией молекулы протромбина, «молекулярной болезнью».

Липиды ускоряют свертывание, так как, вероятно, на их поверхности раздела фаз происходит ориентация гидрофобных и гидрофильных частей белковых молекул с образованием липопротеинового комплекса (Папахадипоулос и Ханахан).

Таким образом, по этой гипотезе, происходит аутокаталитическое образование тромбина, вначале медленное, а позднее — лавинообразное.

Разные авторы показали, что, кроме протеолитического действия, тромбин обладает эстеразной активностью, расщепляя эфиры аргинина и лизина. В активном центре находятся те же три аминокислоты — аспарагиновая кислота, серин и глицин, что и в трипсине и в факторе XI.

Из большого числа белков, которые были испытаны, лишь фибриноген, казеин, бета-лактоглобулин и желатин подвергаются протеолиту под действием тромбина. При действии на фибриноген отщепляются два кислых пептида, давая N-концевой глицин на мономере фибрина. Оба пептида содержат C-концевой аргинин, но отличаются N-концевыми группами и скоростью их появления. По электронномикроскопическим исследованиям, молекула фибриногена напоминает гантели с тремя утолщениями, которые соединены тонкими тяжами. После отщепления концевых пептидов происходит неферментативный процесс полимеризации мономеров фибрина (В. А. Белицер, Е. Л. Ходорова и Т. В. Варецкая). Образуется сеть фибрина с включенными в нее форменными элементами крови.

Вслед за свертыванием происходит ретракция сгустка. Этот феномен сокращения, сжатия сгустка, который в физиологических условиях способствует смыканию краев раны, вызывается актомиозиноподобным белком — тромбостенином. Он содержится в

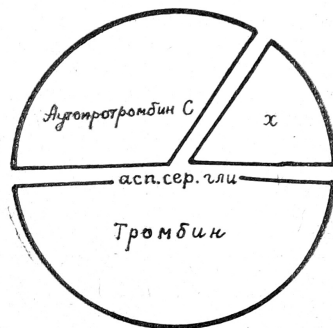


Рис. 1. Схема молекулы протромбина. Так как сумма молекулярных весов тромбина (33700) и аутопротромбина С (24000) не составляет полного молекулярного веса протромбина (68900), следует предположить существование еще одного или нескольких фрагментов с молекулярным весом 11200.

тромбоцитах, является белком, способным к сокращению. Энергия для сокращения поставляется при распаде аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). Гликолитическая система тромбоцитов используется для ресинтеза АТФ. Для протекания этого процесса необходимы также ионы Mg.

До сих пор речь шла лишь о факторах, вызывающих свертывание крови. Между тем в крови присутствует группа веществ, вызывающих замедление свертывания, так называемые физиологические антикоагулянты. Более подробно среди них изучен лишь гепарин, представляющий собой высокосульфированный полисахарид с молекулярным весом около 17000, построенный из остатков глюконовой кислоты и глюкозамина. Он вместе со своим белковым кофактором оказывает тормозящее влияние на многие звенья свертывания крови: на образование тромбопластина, активацию протромбина, ферментативное действие тромбина на фибриноген. Объясняют действие гепарина его сильным отрицательным зарядом. Образуя комплексы с белками (Б. А. Кудряшов), он уменьшает сродство между ними ввиду увеличения их заряда. Кроме гепарин-антитромбина, известны еще пять антитромбинов и ряд антитромбопластинов. Многие из них еще мало изучены.

Начиная с Пауля Моравица, считается, что в крови между прокоагулянтами и антикоагулянтами существует равновесие, причем преобладает действие антикоагулянтов, и поэтому не происходит прижизненного свертывания крови. Отрицается возможность появления тромбина в кровотоке. Нам впервые удалось обнаружить тромбин в кровотоке без введения извне каких-либо активаторов его образования. Достаточно сделать животному кровопускание, как в кровотоке появляется активный тромбин в количестве 0,0001—0,05 *ед/мл* крови. За исключением небольшого числа случаев, это не ведет к смертельному тромбообразованию, как следовало бы ожидать в соответствии с аутокаталитическим ходом процесса свертывания.

Поддержание жидкого состояния крови в кровотоке, на наш взгляд, обеспечивается не простым равновесием про- и антикоагулянтов с преобладанием последних, а более сложным процессом в незамкнутой системе, который в первом приближении может рассматриваться как стационарное состояние. Надо полагать, что в организме постоянно происходит активация свертывающей системы крови. Назначение такого медленного частичного свертывания состоит в поддержании прочности сосудистой стенки. Об этом свидетельствует более быстрый оборот факторов свертывания крови, чем оборот других белков плазмы. О том же свидетельствует развитие геморрагического синдрома при дефектах свертывания. Наконец, нами обнаружено прямое доказательство — активный тромбин в кровотоке.

Какова судьба избыточного фибрина, который может образоваться при непрерывном функционировании свертывающей системы крови? Он поглощается клетками ретикулоэндотелиальной системы и подвергается лизису под действием специального протеолитического фермента плазмина (фибринолизина). Активация плазмينا обеспечивается системой факторов, которая не менее сложна, чем система свертывания. Некоторые звенья обеих систем перекрещиваются. Сложность фибринолитической системы и подробное изложение достижений и перспектив ее изучения, представленное недавно в Казанском медицинском журнале Г. В. Андрееко, являются достаточным основанием для того, чтобы остановиться на этом кратком отражении современных воззрений на процесс свертывания крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрееко Г. В. Казанский мед. ж. 1964, 6. — 2. Белицер В. А., Ходорова Е. Л., Варецкая Т. В. Укр. биохим. ж. 1961, 33, 5. — 3. Зубаиров Д. М., Репейков А. В., Тимербаев В. Н. Физиол. журн. СССР, 1963, 49, 1. — 4. Кудряшов Б. А. Материалы Всесоюзного съезда физиологов в Ереване, М., 1964. — 5. Шмидт А. Военно-мед. журн. 1863, 86, 2. — 6. Biggs R. and Macfarlane R. G. Human Blood Coagulation and its Disorders. 3rd edition. Blakwell Scientific Publications, Oxford, 1962. — 7. Lundblad R. L. and Davie E. W. Biochemistry, 1964, 3, 11; 1965, 4, 1. — 8. Margolis J. J. Physiol. 1958, 144, 1. — 9. Miller K. D. Vox Sanguinis, 1958, 3, 63. — 10. Nossel H. L. The Contact Phase of Blood Coagulation, F. A. Davis Company, Philadelphia, 1964. — 11. Owen P. A. Lancet, 1947, 12, 446. — 12. Papahadjopoulos D. and Hanahan D. J., Biochim. Biophys. Acta. 1964, 90, 2. — 13. Quick A. J. Am. J. Physiol. 1936, 114, 2. — 14. Ratnoff O. D. and Davie E. W. Biochemistry, 1962, 1, 4. — 15. Seegers W. H. Prothrombin, By Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts, 1962. — 16. Spaet T. H. and Cintron J. Proc. Soc. exper. Biol. and Med., 1960, 104, 3. — 17. Wöhlisch E. Ergebn. Physiol., 1940, 43.