

УРОКИНАЗА И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ ЛЕЧЕБНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

М. Г. Асадуллин

Кафедра биохимии (зав.—проф. Д. М. Зубаиров) Казанского ордена Трудового Красного Знамени медицинского института им. С. В. Курашова

Фибринолиз — это расщепление фибрина под действием пламина. Регуляция фибринолитической системы организма осуществляется через сложные реакции, включающие активируемые, активирующие и ингибиторные вещества. Одним из путей увеличения фибринолитической активности является введение в кровь пламина. В последние годы его препараты под названием «фибринолизин» получены и нашли свое применение в клинической практике [1, 2, 14]. Не меньшее значение имеет введение активаторов пламиногена — урокиназы, липополисахаридов бактериального происхождения и стрептокиназы. Особое место во врачебном арсенале занимает стрептокиназа, применяемая при тромбозах. При активировании пламиногена предварительно происходит стехиометрическое взаимодействие стрептокиназы с проактиватором пламиногена, в результате чего образуется активатор, каталитически переводящий пламиноген в пламин [22].

Однако литический эффект этого препарата связан с некоторыми его весьма невыгодными качествами. Среди них на первый план выступает необходимость строгой индивидуальной дозировки: сначала для подавления естественной антистрептокиназы, и лишь затем для достижения литического действия. Основной недостаток препарата усматривается в его неспособности проникать в тромбы, в результате чего его действие ограничивается лишь протеолизом ряда прокоагулянтов, что, впрочем, тоже лимитируется ингибирующим действием естественного антипламина [15, 31, 36].

Наиболее перспективно применение урокиназы в качестве активатора пламиногена, так как этот физиологический активатор, не обладающий токсическими свойствами, без риска может быть введен в организм большого совместно с активным пламиногеном [5, 6, 38]. Поэтому пламин, активированный урокиназой, не нуждается в очистке от активатора. При действии урокиназы создаются благоприятные условия для активации пламиногена, адсорбированного тромбом, что усиливает тромболитический эффект препарата. Урокиназа в небольших дозах активирует пламиноген в пламин, судьба которого оказывается такой же, как при введении чистого пламина. Источник для выделения препарата, в отличие от пламина, не ограничен.

Активация пламиногена урокиназой является ферментативной реакцией с оптимальным pH 9. Урокиназа является протеолитическим ферментом, способным расщеплять связи аргинин — валин [4, 29, 30]. Она гидролизует эфиры аргинина, на этом свойстве основан метод измерения активности, позволяющий определить урокиназу в единицах СТА (Комитет по тромболитическим агентам). В действии урокиназы на пламиноген не отмечается высокой видовой специфичности. Урокиназа человека способна активировать пламиноген большинства видов млекопитающих [8, 20, 32]. Установлена лишь видовая специфичность урокиназы морских свинок, которая с хорошо воспроизводимым результатом активирует только пламиноген морских свинок [18, 27]. Активация пламиногена в присутствии урокиназы обусловлена расщеплением связи аргинин — валин, что ведет к возникновению молекул, образованных из двух полипептидных цепей, связанных между собой дисульфидным мостиком (см. схему). Этот механизм объясняет, почему пламиноген и пламин имеют один и тот же аминокислотный состав и иммунологическую идентичность. Стрептокиназа также осуществляет гидролиз избирательно на уровне связи аргинин — валин. То же самое происходит и под действием других факторов. Молекула пламина получается одинаковой, независимо от вида активатора [33].

Впервые о наличии в моче фермента, обладающего уротриптическим действием, было сообщено в 1907 г. В 1933 г. эти данные были подтверждены [11]. В 1951 г. при исследовании фибринолитической и протеолитической активности смеси плазмы и мочи было найдено, что фибринолитическая активность мочи является следствием наличия в моче киназы, способной активировать пламиноген [39]. Эту киназу назвали урокиназой [34]. В 1952 и 1956 гг. были предложены методы выделения урокиназы, однако они были очень трудоемки и давали малые количества плохо очищенного препарата. К настоящему времени она очищена и идентифицирована посредством хроматографии на ДЕАЕ — целлюлозе [24]. Получены препараты с активностью 54 000 и 104 000 СТА. Урокиназа хорошо растворима в воде, весьма термостабильна: при pH около 10 выдерживает нагревание до 50°, при pH 9 — до 70°, при снижении pH до 5 не происходит полного разрушения фермента при нагревании в кипящей воде [10].

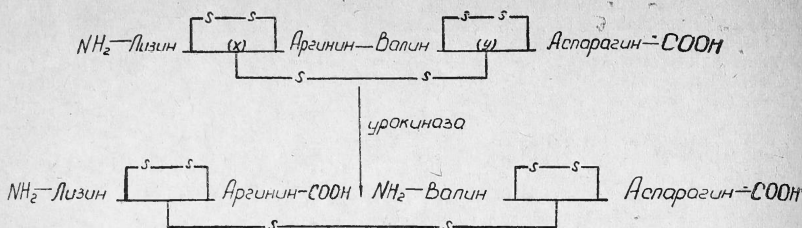


Схема активации плазминогена в плазмин под действием урокиназы.

Концентрация урокиназы в моче зависит от ряда условий. Физические упражнения увеличивают фибринолитическую активность крови и повышают содержание урокиназы в моче [13]. У человека, придерживающегося бессолевой диеты, содержание урокиназы в моче значительно выше, чем при нормальном приеме NaCl. Низкая концентрация ее наблюдается при функциональном поражении почек, после хирургического вмешательства, при тромбозах, после гепатэктомии, при злокачественных новообразованиях. После инфаркта миокарда наблюдалось резкое увеличение концентрации урокиназы в моче [21]. Другими же исследователями обнаружено, что экскреция урокиназы с мочой носит индивидуальный характер, не меняется в зависимости от времени суток и отличается постоянством [12]. При увеличении фибринолитической активности крови экскреция урокиназы не увеличивается.

До настоящего времени нет единого мнения о происхождении урокиназы, но большинство исследователей склонно считать, что она вырабатывается тканями мочевого тракта [28]. Некоторые авторы считают, что урокиназа либо связана с плазминогеновым активатором, либо идентична ему и что степень ее выделения зависит от степени выделения этого активатора из тканей в кровотоке [21]. После введения животного папаверина повышение почечного кровотока сопровождается нарастанием фибринолитической активности крови почечных вен [25]. Предполагается, что почки участвуют в образовании активаторов фибринолиза, одним из которых является урокиназа, и что физиологическая роль урокиназы может состоять в лизисе отложений фибрина, препятствующих фильтрации в клубочках. В опытах с препаратами урокиназы, меченной S^{75} и J^{125} , было показано, что почки являются местом синтеза и хранения урокиназы [37]. Эти данные были подтверждены и детализированы. Оказалось, что синтез урокиназы происходит в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов почки [23].

За последнее время интерес к этому ферменту значительно возрос не только из-за его быстрого действия как активатора плазминогена, но и потому, что он вырабатывается в естественных условиях. Для клинических и экспериментальных исследований используются как фирменные препараты, так и полученные по оригинальным методам. Отсюда и различный эффект. Иногда после введения урокиназы повышается свертываемость крови. Можно предположить, что это связано с неомогенностью препаратов и отсутствием стандартизации. Некоторые препараты урокиназы содержат три основных антигена [16]. Один из них не обладает способностью активировать плазминоген. Способность второго в этом отношении сомнительна. Третий отличается высокой урокиназной активностью. Первые два антигена составляют менее 5% всего препарата, активный же компонент — 20%. Около 70% белка препарата не осаждалось антителами и не обладало урокиназной активностью. Активный компонент представляет собой медленно мигрирующий при электрофорезе белок. Показано далее, что в анти-сыворотке антитела против первого и второго компонентов присутствовали в более высоком титре, чем против третьего компонента. Отмечается, что урокиназу можно выявлять в нормальной сыворотке человека, пользуясь иммунологическими методами, в частности методом двойной диффузии.

Нами был получен гомогенный препарат урокиназы, обладающий высокой фибринолитической активностью при исследовании методом лизиса фибрин-агаровых пластин по Аструпу — Перлику. Как показал электрофорез на крахмальном геле и тонкослойная гель-фильтрация на Сефадексе-G-200, он содержит лишь одну фракцию. Препарат не обладает тромбопластическим действием, что чрезвычайно важно при его внутривенном введении.

Тромболитическую активность урокиназы исследовали в пробирке и на животных, пользуясь фибриногеном человека, меченным J^{131} . При помещении меченого сгустка в раствор урокиназы в концентрации 20 ед. на мл через 2 часа радиоактивность сгустка уменьшалась на 15%. У 23 собак вызвали эмболию мозговой или бедренной артерии и вводили урокиназу в дозе 1000 ед./кг (9 животных) или 100 ед./кг (6 животных). Урокиназу вводили дважды — через 24 и 48 час. после эмболии. У собак, получивших урокиназу, отмечалось растворение эмболов, независимо от того, производилось ли однократное или капельное вливание раствора урокиназы [19]. Н. С. Стасюк наблюдала 22 больных с острыми артериальными тромбозами, эмболией легочной артерии,

свежими венозными тромбозами, тромбозом артерий мозга, а также больных с инфарктом миокарда. Препарат вводили в дозах 20 000—40 000 ед. совместно с гепарином (10 000 ед. гепарина на 20 000 ед. плазмину) в течение 2—3 час. по 3—4 дня подряд. Введение препарата не вызывало побочных реакций. У большинства больных (за исключением одного со старым тромботическим процессом в средней мозговой артерии и панэнцелартеритом) улучшалось состояние [7]. Клиническое испытание урокиназы «Грин Кросс» показывает, что введение 3600 ед. на кг внутривенно в качестве начальной дозы и последующее ежедневное введение такой же дозы было достаточным для тромболитиза. С увеличением дозы урокиназы понижение свертываемости крови становилось более выраженным, но эта зависимость оказалась не столь закономерной, как при аналогичном лечении стрептокиназой. Активирование фибринолитической системы при использовании урокиназы было в принципе таким же, как и при применении стрептокиназы, хотя отдельные компоненты этой системы (тромбиновое время, лизис фибриновых сгустков, меченных J¹²⁵, активность активатора по казеиновому тесту) изменялись при введении урокиназы и стрептокиназы по-разному. Повторные инъекции урокиназы (в отличие от стрептокиназы) не приводили к повышению титра антител. Побочных эффектов и признаков начального повышения свертываемости крови при применении урокиназы не наблюдалось [17]. Изучение возможности клинического применения урокиназы в офтальмологической практике (на кроликах) показало, что урокиназа, действуя как активатор плазминогена, повышала фибринолитическую активность тканей глаза. Внутривенное введение 5000 ед. урокиназы в 500 мл физиологического раствора в течение 3 час. 2—3 дня подряд привело к отчетливому клиническому улучшению у 6 из 7 больных с закупоркой вены сетчатки, преретинальной геморрагией или закупоркой артерии сетчатки. При местном применении урокиназы благоприятный эффект получен у 20 из 23 больных, страдающих заболеваниями сосудов глаза. Из побочных эффектов при лечении урокиназой отмечена пирогенная реакция при внутривенном введении урокиназы у 1 из 7 больных и незначительные местные явления в виде красноты и боли при субконъюнктивальном введении урокиназы у 3 из 23 больных [26].

Установлено, что некоторые препараты урокиназы являются хорошими местнодействующими гемостатическими веществами для гемофильных пациентов. Она может быть использована в малой хирургии, например, при удалении зубов, при порезах и т. д. [10]. Надо полагать, что это действие обусловлено недостаточной очисткой и примесью тромбопластина в препарате.

Таким образом, урокиназа как естественный активатор фибринолитической системы обладает рядом преимуществ по сравнению с другими активаторами. Она не вызывает пирогенной реакции и образования антител. Высокоочищенные гомогенные препараты урокиназы дадут возможность создать новые методы для лечения тромбозов и эмболий путем повышения собственной фибринолитической активности крови больного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев Г. В. Казанский мед. ж., 1964, 6; Фибринолиз, химия и физиология процесса. Медицина, М., 1967.—2. Андреев Г. В., Струкова С. М. Биохимия, 1962, 2.—3. Асадуллин М. Г. Мат. конф. «Атеросклероз и гипертоническая болезнь». Казань, 1970.—4. Богомолова Л. Г. Мат. конф. по проблеме фибринолиза. Л., 1967.—5. Доннер Л. Ф. Пробл. гемат. и перелив. крови, 1965, 10.—6. Мартынов С. М., Стасюк Н. С. Материалы III Всесоюзной конф. по коагулологии. Львов, 1969.—7. Стасюк Н. С. Пробл. гемат. и перелив. крови, 1967, 12.—8. Федорова З. Д., Слободжанкина И. К. Мат. конф. по пробл. фибринолиза. Л., 1967.—9. Ambrus J. L., Ambrus C. M., Sokal J., Markus J., Back N. Am. J. Cardiol., 1960, 62.—10. Aoki N., Kaulla K. N. Throm. et Diath. haemor., 1966, 16, 3.—11. Bauman J. Ges. exper. med., 1933, 91, 120.—12. Baumgarten W., Rose B., Cole E. Throm. et Diath. haemor., 1961, 3/4.—13. Celandier D., Guest M. Am. J. Cardiol., 1960, 6, 2.—14. Coon W. W., Duff J. F. J. Lab. Clin. Med., 1958, 51.—15. Davies M. C., Engelert M. E., Remro E. C. Biol. Chem., 1964, 239.—16. Engene D., Boll A., Jeffords D., Woodard W., Silver D. Throm. et Diath. haemor., 1969, 21, 2.—17. Fischer M., Pilgerstorfer H. W. Internat. Z. klin. Pharmakol., Therap., Toxikol., 1969, 2, 3.—18. Holemans R., McConnell D., Jonston J. Throm. et Diath. haemor., 1966, 15, 1/2.—19. Ito Reico J. Nagoya Med. Assoc., 1967, 90, 3.—20. Kaulla K. N. Acta haematol., 1956, 5, 315.—21. Menon J. S. Antiseptic, 1968, 5, 12.—22. Mikuni M., Kimura S. Acta med. et Biol. 1967, 15, 1.—23. Mohler S., Celandier D., Guest M. Am. J. Physiol., 1958, 192, 1.—24. McNikol G., Fletcher A., Alkjaersig N., Sherry S. J. Lab. clin. Med., 1961, 58, 12.—25. Olow B., Nilsson J. M. Acta chir. Scand., 1963, 125.—26. Ploung J., Kjeldgaard N. Biochem. Biophys. Acta, 1957, 3, 24.—27. Prado E. S., Brandi M. Arch. int. Pharmacodyn., 1962, 137.—28. Riggenbach N., Kaulla K. N. Cancer, 1961, 14, 4.—29. Robbins K. C., Elwyn D., Barlow H. J. Biol. Chem., 1965, 240, 541.—30. Sobel G., Mohler S., Jones N., Dowdy A., Guest M. Am. J. Physiol.,

1952, 171, 768. — 35. Sultan G., Caen J., Allain J., Meyer D. Pathologie Biologie. 1969, 17. — 36. Tsapogas M. J., Flute P. Brit. Med. Bull., 1964, 20, 30. — 37. Vigorito T., Celander E., Celander D. Fed. Proc., 1965, 24, 2. — 38. Wilfrid T. W., Grant H., Milton. Biochemistry, 1966, 5, 7. — 39. Williams J. R. Brit. J. Exper. Path., 1951, 32, 530.

ГИГИЕНА ТРУДА И ПРОФЗАБОЛЕВАНИЯ

УДК 613.633—616.233

ХРОНИЧЕСКИЙ БРОНХИТ ОТ ЗЕРНОВОЙ ПЫЛИ

С. А. Степанов

Кафедра патологической анатомии (зав.—проф. А. М. Антонов) Саратовского медицинского института и Саратовский НИИ сельской гигиены

Нами установлено, что в развитии пылевого бронхита рабочих, занятых обработкой зерна на элеваторах и полевых токах, основную роль играет зерновая пыль, максимальная концентрация которой достигает порой 380 мг/м^3 (С. А. Степанов, Е. А. Маврина, М. И. Карпова, 1966). Т. А. Кочеткова, В. И. Зерцалова (1964) и др. также выявили хронические пылевые бронхиты у рабочих мукомольного и хлебопекарного производства.

Нами совместно с Е. А. Мавриной осмотрено на элеваторах Саратовской области 424 рабочих. У 17% обследованных стаж работы с зерном не превышал 10 лет, у 23,9% был свыше 10 лет и у 20% — свыше 20 лет. Хронические заболевания верхних дыхательных путей диагностированы у 28,7%, из них хронический бронхит — у 17%. У 69,3% осмотренных была снижена мощность выдоха и вдоха. Наиболее ранним признаком вредного действия зерновой пыли является снижение функции внешнего дыхания, которое, по данным Е. А. Мавриной (1966), наблюдается как у лиц с хроническим бронхитом и начальной стадией пневмокониоза, так и у лиц без клинических признаков поражения легких.

В стационаре обследовано 40 рабочих элеваторов. Хронический пылевой бронхит обнаружен у 29, начальная стадия пневмокониоза — у 11, пневмокониоз — у 2 рабочих со стажем работы от 12 до 20 лет. У 12 больных выявлен хронический неосложненный бронхит, который развивался постепенно на фоне неоднократных симптомов «зерновой лихорадки» через 5—25 лет после начала работы с зерном. Некоторые рабочие с повышенной индивидуальной чувствительностью на пылевое воздействие в первые же дни контакта с зерновой пылью заболевали так называемым инициальным бронхитом, который с прекращением воздействия пыли исчезал. Однако уже после 2—3 лет работы в контакте с зерновой пылью возникал упорный длительно протекающий бронхит, обозначенный нами как хронический. Для этой группы больных характерно легкое течение заболевания, незначительные нарушения функции внешнего дыхания, проявляющиеся снижением бронхиальной проходимости (дыхательная недостаточность первой степени). Заболевание редко обостряется, поддается терапевтическим воздействиям; больные продолжают работать и редко обращаются за медицинской помощью.

У больных с выраженным осложненным бронхитом (18 чел.) латентный период заболевания колебался от 6 до 11 лет, а длительность болезни — от 7 до 16 лет. У них наблюдался постоянный кашель с выделением слизистой или слизисто-гнойной мокроты, с приступами удушья, болями в грудной клетке и одышкой даже при небольшой физической нагрузке. Заметно увеличивалось число обострений, прогрессировали проявления бронхита, протекающего с астмоидным и инфекционным компонентом и в ряде случаев осложненного бронхоэктазами и пневмосклерозом. Постепенное прогрессирование легочной и легочно-сердечной недостаточности приводило к значительному снижению трудоспособности. У 9 больных хронический бронхит протекал с выраженными аллергическими реакциями и признаками астмоидного компонента, подтвержденными положительными кожными пробами с грибковыми аллергенами. Полученные данные позволяют считать, что в развитии хронического бронхита, протекающего с выраженной аллергической реакцией (так называемая «зерновая лихорадка»), помимо зерновой пыли определенную роль играют плесневые грибы. В основе «зерновой лихорадки» лежит грибковая инфекция, возникающая у рабочих при молотье зерновых культур, а также аллергия организма растительными аллергенами зерновой пыли и грибами (С. А. Степанов, 1968).

Хронический пылевой бронхит нередко осложняется неспецифической бактериальной инфекцией. При бактериологическом исследовании мокроты больных хроническим