

Следует отметить, что выраженное гипотензивное действие армина проявилось на 37 глазах из 59, а на 22 гипотензивный эффект отсутствовал либо был в пределах ошибки измерения (от 1,5—2,0 мм рт. ст.).

Коэффициент легкости оттока (КЛО) повысился при применении водного раствора армина до  $0,13 \pm 0,01 \text{ мм}^3 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мм рт. ст.}^{-1}$  (исходная величина равнялась  $0,10 \pm 0,02 \text{ мм}^3 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мм рт. ст.}$ ). Под влиянием пролонгированного препарата КЛО возрос до  $0,16 \pm 0,01 \text{ мм}^3 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мм рт. ст.}^{-1}$ . Минутный объем водянистой влаги до лечения равнялся  $1,44 \pm 0,05 \text{ мм}^3/\text{мин}$ , под влиянием инстилляций водного раствора армина он уменьшился до  $1,31 \pm 0,05 \text{ мм}^3/\text{мин}$ , а после лечения пролонгированным препаратом армина — до  $1,19 \text{ мм}^3/\text{мин}$ .

Под нашим наблюдением находилось также 30 больных (31 глаз) с открытоугольной глаукомой, которые длительное время получали инстилляций 0,005% армина на 0,5% растворе ОПМЦ (возраст больных — от 44 до 76 лет). После 6-месячного лечения внутриглазное давление понизилось на 6,4 мм рт. ст. У 18 больных (19 глаз) было исследовано внутриглазное давление после 6—12 мес лечения. В этой группе офтальмотонус понизился на 6,6 мм рт. ст.

Наши наблюдения показывают, что при длительном применении 0,005% армина на 0,5% растворе ОПМЦ гипотензивное действие его не уменьшается. Достигнутое в начале лечения понижение внутриглазного давления стабильно сохраняется в течение всего периода наблюдения. Компенсация офтальмотонуса при лечении от 1 до 6 мес наступила у 51,7%, умеренно-повышенное давление оставалось у 43,9%, высокое сохранялось у 4,4% пациентов.

Тонографические исследования показали, что КЛО камерной влаги при сроке наблюдения 1—6 мес (32 глаза) увеличивался до  $0,15 \pm 0,09 \text{ мм}^3 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мм}^{-1} \text{ рт. ст.}$  при исходной величине, равной  $0,08 \pm 0,07 \text{ мм}^3 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мм рт. ст.}^{-1}$ . Через 6—12 мес лечения пролонгированным препаратом армина (19 глаз) КЛО камерной влаги увеличился на  $0,08 \text{ мм}^3 \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мм рт. ст.}^{-1}$  от исходной величины.

Минутный объем водянистой влаги через 1—6 мес лечения оставался без изменений ( $1,21 \pm 0,07 \text{ мм}^3/\text{мин}$ ). Острота зрения при лечении в течение 1—6 мес не изменилась на 16 глазах, увеличилась от 0,01 до 0,2 на 8 глазах, ухудшилась на 2 глазах. Поле зрения после лечения в течение 1—6 мес расширилось на  $48^\circ$ , а через 6—12 мес — на  $55^\circ$ . При биомикроскопическом исследовании после длительной инстилляций препарата не выявлено катарактальных изменений в хрусталике.

Результаты исследования позволяют рекомендовать пролонгированный раствор армина к использованию в клинической практике.

Поступила 22 мая 1979 г.

УДК 612.115.12+547.962.4

## ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ОЛИГОМЕРНОЙ ПРИРОДЫ ФИБРИНОГЕНА Б

*Р. И. Литвинов*

*Кафедра биохимии (зав.— проф. Д. М. Зубаиров) Казанского ордена Трудового Красного Знамени медицинского института им. С. В. Курашова и кафедра терапии № 1 (зав.— проф. Л. А. Щербатенко-Лушникова) Казанского ГИДУВа им. В. И. Ленина*

**Реферат.** Исследование с применением хроматографического и иммунохимического методов показало, что фибриноген Б, осаждаемый β-нафтолом из плазмы крови больных людей, имеет олигомерную природу. Эти данные с учетом химического состава фибриногена Б позволяют утверждать, что фибриноген Б представляет собой вариант растворимых комплексов фибрин-мономера. Это определяет клиническое значение пробы с β-нафтолом как экспресс-метода диагностики тромбозов.

Ключевые слова: фибриноген Б, химическая природа.  
2 рисунка. Библиография: 20 названий.

**Фибриногеном Б называют белок, который осаждается из патологической плазмы крови при добавлении раствора β-нафтола в этаноле. Фибриноген Б часто обнаруживается у больных с признаками внутрисосудистой активации свертывания крови [4, 7, 8 и др.], что позволяет использовать реакцию на фибриноген Б для диагностики гиперкоагулемии.**

Известно, что появление фибриногена В в крови вызывается действием на фибриноген микроколичеств тромбина [2, 6] и образованием мономерного фибрина [3]. Электрофоретическое исследование фибриногена В показало, что его основу составляет фибриноген [5], а анализ полипептидного спектра и N-концевых аминокислот позволил обнаружить в фибриногене В 13—18% мономерного фибрина с сохраненными фибринопептидами В.

Исходя из этих результатов, можно предположить, что фибриноген В — это растворимые производные фибриногена, содержащие фибрин-мономер. Такие производные, известные под названием растворимых комплексов фибрин-мономера (РКФМ), действительно обнаруживаются в крови больных людей [14, 17, 20]. Однако, чтобы окончательно подтвердить идентичность фибриногена В и РКФМ, необходимо доказать олигомерную природу фибриногена В, что и сделано в настоящей работе.

Кровь больных острым инфарктом миокарда брали из вены широкой иглой без шприца в пластиковую посуду и смешивали со стабилизатором в отношении 9 : 1 по объему. Состав стабилизатора: 0,1 М цитрат натрия, 0,02 М  $\text{Na}_2\text{-ЭДТА}$ , 500 ЕД ед./мл трасилола (Bayer, ФРГ). Бестромбоцитную плазму получали центрифугированием при 2500 г в течение 20 мин при комнатной температуре.

Фибриноген В осаждали из плазмы крови 2% раствором  $\beta$ -нафтола в 50% этаноле, добавляя к 4 мл плазмы 0,6 мл реактива [12]. Образующийся осадок отделяли центрифугированием (600 г, 5 мин) и ресолюбилизировали в 3 мл фосфатно-цитратного буфера рН 7,2 при 37°C. Нерастворившуюся часть отделяли центрифугированием или фильтрованием через стеклянный фильтр.

Плазму или раствор фибриногена В подвергали гель-хроматографии на Сефарозе 4В (Pharmacia Fine Chemicals Uppsala, Швеция). Размеры колонки —  $2,5 \times 90$  см, объем наносимой пробы — 2 мл, рабочее давление — 30 см вод. ст., скорость тока — 10 мл/час, объем собираемых фракций — 3 мл. Свободный объем колонки, определенный по суспензии *E. coli*, равен 81 мл. В качестве элюента использовали фосфатно-цитратный буфер рН 7,2, содержащий 0,05% азида натрия [11].

Анализ фракций проводили по поглощению при 280 нм. Для обнаружения в элюате фибриногена и его производных использовали реакцию торможения гемагглютинации таннизированных эритроцитов [18]. Кроличью сыворотку с антителами к фибриногену человека получали по Киссеру и соавт. [16], фибриноген человека для иммунизации — методом Т. В. Варецкой [1]. Количество коагулируемого белка, определенное по методу Атенцио и соавт. [10], составляло 97,6%. В реакции иммунодиффузии в геле агары адсорбированная сыворотка была моноспецифичной (см. рис. 1).

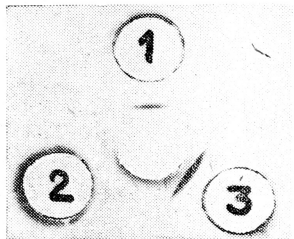


Рис. 1. Результаты реакции иммунодиффузии по Оухтерлони.

В центре — адсорбированная кроличья сыворотка с антителами к фибриногену человека. По периферии: 1 — раствор фибриногена человека, 2 — сыворотка крови человека, 3 — плазма крови человека.

Хроматография на геле агарозы стала распространенным методом выявления высокомолекулярных производных фибриногена и их препаративного выделения. В наших опытах хроматографии в стандартных условиях подвергались: 1) плазма, содержащая фибриноген В; 2) фибриноген В, осажденный из этой плазмы; 3) плазма, оставшаяся после осаждения фибриногена В; 4) контрольная плазма, не содержащая фибриногена В. Результаты опытов представлены на рис. 2.

На рис. 2 А отчетливо видно, что исходная плазма больного инфарктом миокарда содержит производные фибриногена с большой молекулярной массой (пик 2), объем элюции которых меньше объема элюции фибриногена (соответственно 120 и 144 мл). Профиль элюции этой плазмы сходен с хроматографической кривой, полученной для

плазмы больных с истинной полицитемией [11], преэклампсией [13] или плазмы, проинкубированной с тромбином [15]. Во всех этих случаях имеет место активация свертывания крови с образованием РКФМ. Появление в плазме крови РКФМ, обнаруженных разными методами, характерно и для инфаркта миокарда [9, 19].

Хроматографическая кривая фибриногена В (см. рис. 2 Б) почти идентична кривой плазмы, из которой он получен. Это согласуется с данными, полученными при электрофорезе, по которым фракционный состав фибриногена В качественно идентичен белковому спектру плазмы [5]. Важно отметить, что в составе фибриногена В есть те же высокомолекулярные производные фибриногена, что и в плазме. Они выявляются по пику, который предшествует пику фибриногена. Их содержание составляет приблизительно 20% от общего количества фибриногенореактивного материала.

Именно эти производные являются наиболее важным компонентом фибриногена В, определяющим его пониженную растворимость в присутствии этанола и  $\beta$ -нафтола. С учетом данных о присутствии мономерного фибрина в составе фибриногена В, а также об иммунологическом родстве обнаруженных производных с фибриногеном, можно заключить, что фибриноген В — это растворимые комплексы фибрин-мономера, имеющие олигомерную природу.

В надосадке плазмы, остающейся после отделения фибриногена В, РКФМ не обнаруживаются (см. рис. 2 В). Количество фибриногена, по данным РТГА, значительно уменьшается, а большая его часть осаждается с фибриногеном В. Это подтверждает наши данные о вовлечении фибриногена в осадок под действием этанола и  $\beta$ -нафтола [5]. Важно подчеркнуть, что в ходе реакции происходит полное осаждение РКФМ и только частичное осаждение фибриногена. Это говорит о специфичности пробы с  $\beta$ -нафтолом по отношению к РКФМ, хотя специфичность эта относительна.

Полученные данные в сочетании с результатами изучения молекулярного состава фибриногена В позволяют однозначно определить природу фибриногена В и установить его идентичность с РКФМ. Растворы этих комплексов, имеющих олигомерное строение и большую молекулярную массу, обладают наименьшей термодинамической устойчивостью. При добавлении денатурирующих веществ (этанола,  $\beta$ -нафтола) в концентрации, не достаточной для осаждения фибриногена и других белков плазмы, РКФМ выпадают в осадок. При этом они увлекают за собой другие плазменные белки, которые взаимодействуют с РКФМ через нековалентные связи. Образование этих связей в условиях гидрофобизации водного раствора и уменьшения его диэлектрической константы существенно облегчается. Это приводит к соосаждению плазменных белков с РКФМ. Таким представляется механизм осаждения фибриногена В, вытекающий из его олигомерной природы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Варецкая Т. В. Укр. биохим. ж., 1960, 32.— 2. Зубаиров Д. М. Казанский мед. ж., 1962, 5.— 3. Зубаиров Д. М., Литвинов Р. И., Соболева И. В., Субханкулова Ф. В. Там же, 1975, 3.— 4. Кузьмук В. В., Репин А. В., Тарасов М. С. Лабор. дело, 1973, 9.— 5. Литвинов Р. И. Там же, 1977, 8.— 6. Мачабели М. С., Безарашвили Л. Г. Plsen. lik. Sborn., 1967, 18, suppl.— 7. Надырова Г. Г., Хабибуллина С. Х. Казанский мед. ж., 1974, 3.— 8. Смолянский Д. Я., Шумбаллина Л. Ф. Лабор. дело, 1974, 8.— 9. Anaya-Galindo R., Shattil S. J., Shelburne J. C., Colman R. W. Thrombos. Res., 1976, 9, 2.— 10. Atencio A. C., Bierdick D. C., Reeve E. V. J. Lab. Clin. Med., 1965, 66, 1.— 11. Carvalho A., Ellman Z. Blood, 1976, 47, 4.— 12. Cummine H., Lyons R. N. Brit. J. Surg., 1948, 25, 140.— 13. Edgar W., McKillop C., Howie P. W., Prentice C. R. M. Thrombos. Res., 1977, 10, 4.— 14. Hafter R., Müller-Berghaus G., Hugo R. von Graeff H. Thrombos. Res., 1977, 10, 5.— 15. Hugo R. von Hafter R., Stemberger A., Graeff H. Thrombos. Diathes. haemorrh., 1975, 34, 1.— 16. Kisker C. T., Plummer G., Taylor B., Rush R. J. Lab. Clin. Med., 1977, 89, 3.— 17. Lipinski B., Worowski K. Thrombos. Diathes. haemorrh., 1968, 20, 1.— 18. Merskey C., Lalezari J., Johnson A. J. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1969, 131, 3.— 19. Reinicke R., Matthias F. R., Lasch H. G. Thrombos Res., 1977, 11, 3.— 20. Shainoff J. R., Page I. H. J. Exp. Med., 1962, 73, 574.

Поступила 11 сентября 1979 г.

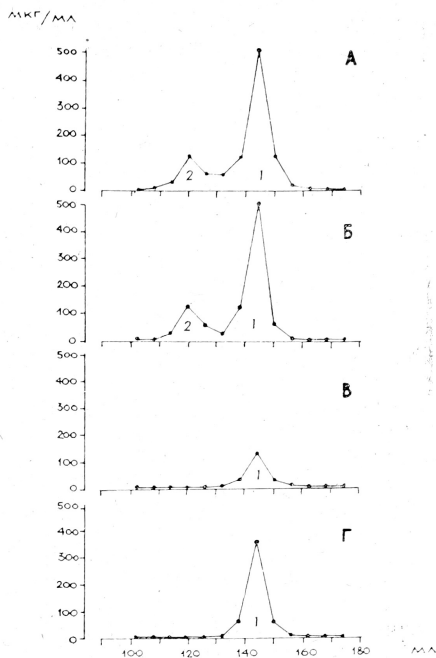


Рис. 2. Результаты хроматографического разделения на Сефарозе 4В фибриногена и его производных: А — в плазме, содержащей фибриноген В; В — в осадке, содержащем фибриноген В; В — в той же плазме после осаждения фибриногена В; Г — в контрольной плазме, не содержащей фибриногена В. По оси абсцисс — объем элюции (мл), по оси ординат — концентрация фибриногенореактивного материала (мкг/мл). Пик 1 — фибриноген, пик 2 — высокомолекулярные производные фибриногена.