

травмы и функциональным состоянием сосудистой системы. Применение данного метода позволило обнаружить серьезные нарушения кровообращения не только в большой, но и в «здоровой» конечности, то есть получить важную информацию для оценки компенсаторных возможностей организма лиц с последствиями тяжелых поврежденных голеностопного сустава. С учетом изложенного выше мы считаем, что такой метод функциональной диагностики, как реовазография, должен быть в арсенале врачей-экспертов для определения степени восстановления трудоспособности больных, перенесших травму опорно-двигательного аппарата.

Поступила 5 июня 1979 г.

УДК 612.111.7+616.155.2]:547.953

ФОСФОЛИПИДНЫЙ СОСТАВ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛЕЙКОЗЕ

С. С. Остроумова

Лаборатория свертывания крови (руководитель — проф. З. Д. Федорова) Ленинградского ордена Трудового Красного Знамени НИИ гематологии и переливания крови

Реферат. Приведены данные литературы об участии фосфолипидов тромбоцитов в процессе гемостаза. Представлены результаты исследований фосфолипидного состава тромбоцитов у больных хроническим лейкозом. В тромбоцитах больных отмечено увеличение количества общих липидов и сфингомиелина, с чем, возможно, связано снижение коагуляционной и увеличение антикоагулянтной их активности.

Ключевые слова: фосфолипиды тромбоцитов.

1 таблица. Библиография: 23 названия.

При контакте с определенными структурами поврежденной сосудистой стенки тромбоциты подвергаются последовательным изменениям, которые завершаются образованием тромбоцитарного тромба. Кроме того, из тромбоцитов выделяется ряд активных веществ, необходимых для нормального осуществления процессов в сосудистом и коагуляционном звеньях гемостаза.

Плазматическая мембрана тромбоцита сходна по строению с мембранами других клеток. Универсальными компонентами этих клеточных структур являются фосфолипиды, бимолекулярный слой которых составляет основу биологических мембран. Среди фосфолипидов тромбоцитарных мембран преобладают фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилсерин (ФС), сфингомиелин (СМ) и фосфатидилинозит (ФИ). Все мембраны включают наряду с липидными структурами различные белки, причем в некоторых клетках белка содержится больше, чем липидов. В большинстве клеточных мембран белки расположены равномерно, в то время как для тромбоцитов установлено их асимметричное распределение. Только немногие из этих белков, включая три главных гликопротеида, находятся на наружной поверхности клетки, остальные локализованы внутри мембраны и на цитоплазматической ее стороне [23].

Клеточные мембраны не являются статичными структурами. Все их компоненты обладают определенной степенью подвижности [21], что делает возможным осуществление таких важных функций, как транспорт метаболитов, специфическая связь гормонов и вводимых лекарственных препаратов, участие в реакции антиген — антитело. Главная роль в этих процессах принадлежит мембранным белкам. Однако и фосфолипидные компоненты не являются только структурными единицами, многие метаболические процессы протекают с их непосредственным участием. Так, например, наличие определенных фосфолипидов необходимо для функционирования таких важнейших мембранных ферментов, как АТФ-аза, аденилатциклаза, которые играют значительную роль в осуществлении физиологической активности тромбоцитов. Установлено, что для активации АТФ-азы в некоторых клетках требуется ФС и ФИ [15], для активации аденилатциклазы необходимы фосфатидилсерин и фосфатидилинозит [16]. Можно предположить, что и в тромбоцитах активация этих ферментов связана с фосфолипидами мембран. Шик и Ю (1974) изучали значение фосфолипидов мембраны на основании определения последствий селективной деструкции тромбоцитарной мембраны под воздействием очищенной фосфолипазы С, гидролизующей фосфолипиды (преимущественно ФХ и в меньшей степени СМ). Молекулы фосфолипазы имеют значительную величину и не могут проходить через поверхность интактных клеток. Следовательно, гидролизу подвергаются фосфолипиды, локализованные на поверхности тромбоцитов. Исследования показали, что минимальный гидролиз (5% фосфолипидов) ведет к стимулированию секреторных реакций, при этом из кровяных пластинок выделяются серотонин, АДФ, фактор 4. Сопоставление действия фосфолипазы и такого индукера выделения, как тромбин, показало, что оно одинаково как по скорости, так и по выделяемым веществам. Ультраструктурные исследования тромбоцитов после

действия фосфолипазы С также выявляют морфологические признаки, характерные для реакций выделения — централизацию гранул и сокращение микротубул. Таким образом, морфологически и функционально действие этого фермента идентично действию, вызванному тромбином. Полученные данные позволили авторам предположить, что фосфолипиды (вероятно ФХ) входят в состав активного центра, необходимого для рецепции некоторых стимулов, которыми начинаются выделительные реакции.

В дальнейшем было установлено, что под влиянием тромбина происходит гидролиз фосфатидилхолина тромбоцитарной мембраны и становится доступной арахидоновая кислота, продукты превращения которой вызывают реакцию освобождения и агрегацию кровяных пластинок [12]. Источник появления арахидоновой кислоты при воздействии других агрегирующих агентов еще окончательно не установлен, но предполагают, что и тогда эту роль выполняют фосфолипиды мембраны. Таким образом, через гидролиз ФХ осуществляется по крайней мере один из путей активации физиологических превращений тромбоцитов, связанных с развитием выделительных реакций.

Кроме изучения роли фосфолипидных компонентов в активации секреторного процесса, внимание исследователей привлекает коагуляционная активность клеток, или так называемый фактор 3 тромбоцитов.

Установлено [11], что тромбопластическая активность фосфолипидов тесно связана с их надмолекулярной организацией. Фосфолипиды тромбоцитов участвуют в коагуляционных реакциях в виде мембранных структур, создавая каталитическую поверхность, на которой происходит взаимодействие факторов V и Ха. Комплекс, состоящий из активного фактора X, фактора V и фосфолипида, представляет собой плазменный активатор, переводящий протромбин в тромбин [1]. Таким образом, активация протромбина невозможна при отсутствии фосфолипидов. Их основным источником при свертывании крови по внутреннему пути являются тромбоциты. Однако механизмы доступности фактора 3 и проявления его активности изучены до сих пор недостаточно полно, хотя именно от этих процессов в значительной степени зависит нормальное осуществление тромбопластинообразования.

Свойства и природа фактора 3 тромбоцитов являются объектом изучения уже на протяжении ряда лет [5, 9]. Было установлено, что фактор 3 представляет собой липопротеид, содержащий ряд фосфолипидов и белковый компонент. Смесь фосфолипидов была разделена на пять основных фракций: ФХ — 37,8%, ФЭ — 31,5%, СМ — 15,1%, ФС — 9%, ФИ — 3,6% [6].

Изучение тромбопластических свойств изолированных фракций фосфолипидов обнаружило их явное различие. Наибольшей активностью обладали ФС, ФЭ и ФИ как отдельно, так и в различных соотношениях, в то время как ФХ и СМ оставались неактивными. Подобная разница указанных свойств этих соединений, возможно, связана с тем, что фосфолипидные классы отличаются друг от друга зарядом полярных групп молекул. В опытах по определению свертывающей способности мицелл из синтетических фосфолипидов было установлено, что при увеличении отрицательного заряда мицелл, который складывается из зарядов составляющих их молекул, увеличивается и их коагуляционная способность [13]. Как известно, наибольший отрицательный заряд несут ФС и ФИ. Кроме того, существенный вклад в суммарный отрицательный заряд в пределах физиологических значений рН вносит и ФЭ. Данные Маркус и соавт. (1969) позволили установить зависимость коагуляционной активности фосфолипидов от состава остатков жирнокислотных цепей, входящих в них. Как оказалось, ФХ и СМ, обладающие малой коагуляционной активностью, содержат в основном насыщенные жирные кислоты и ненасыщенные с небольшим количеством двойных связей, в то время как в составе ФС, ФЭ и ФИ, т. е. фосфолипидов, которые обладают высокой коагуляционной активностью, обнаружены, наряду с насыщенными жирными кислотами, углеводородные цепи со значительным количеством ненасыщенных связей.

Активность тромбоцитов в большой мере зависит от характера распределения фосфолипидов в их мембране. Большая часть тромбопластических нехолиновых фосфолипидов находится на внутренней поверхности клеточной мембраны и не имеет прямого контакта с плазмой, тогда как ФХ и СМ локализируются преимущественно на наружной поверхности интактных тромбоцитов [19]. Как установили Кохен и соавт. (1965), ФХ и СМ в различном соотношении друг с другом обладают антикоагулянтными свойствами, что может способствовать поддержанию тромбоцитов в интактном состоянии. Во время развития процесса коагуляции поверхностные фосфолипиды лишаются этих свойств, вероятно, вследствие гидролиза. Реакция гидролиза способствует доступности фосфолипидов, лежащих на внутренней поверхности мембраны и обладающих тромбопластическими свойствами [20].

Фосфолипиды фактора 3 связаны не только с плазматической мембраной, входя в состав ее структуры, но и с α -гранулами тромбоцитов [22]. В настоящее время не установлено, какая активность имеет большее значение — связанная с поверхностной мембраной или с α -гранулами. По данным Брокмана и соавт. (1976), тромбопластическая активность фракции мембран, выделенных ультрацентрифугированием, равна активности фракции гранул, однако авторы считают, что фактор 3, заключенный в α -гранулах, имеет большее значение, так как интенсивная секреция их содержимого начинается быстро в ответ на экзогенные стимулы. Активность же, связанная с мембранами, возможно, делается доступной на более поздних стадиях тромбоцитарных изменений.

Дефицит фактора 3 при различных патологических состояниях обуславливает развитие серьезных нарушений процесса гемостаза. Это может быть следствием изменений, вызванных как снижением доступности фактора 3, так и нарушением его фосфолипидного состава. Фосфолипиды, как указывалось, играют значительную роль в биологии клеточных мембран, что не может не отразиться и на гемостатическом процессе. В литературе имеются немногочисленные сведения об изменении фосфолипидного состава тромбоцитов при некоторых патологических состояниях. Карака и Стефанини (1965), изучавшие кровяные пластинки больных тромбоцитопатией при хронических паренхиматозных заболеваниях печени, уремии, хронической миелоидной метаплазии, макроцитарной анемии, выявили снижение содержания общих липидов, общих фосфолипидов и относительно низкое содержание ФС и ФХ; эти изменения сочетались со снижением коагуляционных свойств тромбоцитов.

Исследуя снижение активности фактора 3 при врожденной макроцитарной тромбопластической тромбоцитопении, Хаанен и сотр. (1973) установили, что у больных данной группы нарушаются реакции выделения вследствие первичных изменений свойств мембраны. Последняя оказалась более стабильной и менее чувствительной к внешним стимулам в результате изменения липидных компонентов тромбоцитов, что выражалось в снижении ФЭ, увеличении дифосфатидилглицерола, увеличении содержания насыщенных жирных кислот в липидах.

Нами было проведено исследование фосфолипидного состава тромбоцитов у 14 больных, страдающих хроническими лимфо- и миелолейкозами, с целью выяснить связи фосфолипидного состава тромбоцитов с имеющимися нарушениями тромбоцитарных свойств, так как при этой форме патологии закономерно и значительно нарушается функция тромбоцитов, в частности снижается коагуляционная активность тромбоцитов и повышаются их антикоагулянтные свойства [2, 3].

Для экстракции липидов тромбоцитов был использован широко применяемый метод Фолча [8]. Перед экстракцией проводили выделение тромбоцитов. Для этого богатую тромбоцитами плазму как доноров, так и больных центрифугировали 30 мин при 3000 об./мин, предварительно осадив общее количество тромбоцитов, содержащихся в ней. Полученный осадок тромбоцитов для разрушения их структуры подвергали трехкратному замораживанию при температуре -20°C с последующим немедленным размораживанием. Из полученной смеси экстрагировали липиды и высушивали. Количество общих липидов определяли взвешиванием сухого липидного экстракта. Для разделения фосфолипидов использовали метод тонкослойной хроматографии в системе растворителей — хлороформ, метанол, 7 н. аммиак (65:36:5). Количественное определение фосфора в отдельных фосфолипидных фракциях, как и определение общего липидного фосфора, проводили по Бартлету (1959).

Как видно из приводимой ниже таблицы, содержание общих липидов при расчете на стандартное число тромбоцитов в норме составило в среднем $1,47 \text{ мг}/10^9$ тромбоцитов, а при лейкозе оно достигало $2,7 \text{ мг}/10^9$ тромбоцитов. Количество общих фосфо-

Липидный состав тромбоцитов в норме и при заболевании лейкозом

Показатели	Норма	Лейкоз	P	
	n = 15	/ n = 14		
Общие липиды, $\text{мг}/10^9$ тромбоцитов	$1,47 \pm 0,08$	$2,70 \pm 0,18$	$< 0,001$	
Общие фосфолипиды, $\text{МКГ}/10^9$ тромбоцитов	$21,28 \pm 0,93$	$21,92 \pm 0,93$	$> 0,05$	
% к общему липидному фосфору	ЛФХ	$10 \pm 1,2$	$12 \pm 1,5$	$> 0,2$
	СМ	$16 \pm 1,4$	$23,5 \pm 1,5$	$< 0,001$
	ФХ	$52 \pm 5,0$	$45,5 \pm 5,3$	$> 0,5$
	ФЭ	$15 \pm 2,8$	$17 \pm 1,9$	$> 0,5$
	ФК	$7 \pm 0,5$	$2 \pm 0,7$	$> 0,5$

липидов стандартного числа тромбоцитов больных лейкозом существенно не отличалось от этого же показателя здоровых людей. При дальнейшем разделении смеси фосфолипидов тромбоцитов как здоровых людей, так и больных лейкозом были выделены 5 фосфолипидных фракций: лизофосфатидилхолин (ЛФХ), фосфорная кислота (ФК), СМ, ФЭ, ФХ. Количественное сопоставление показало, что содержание ЛФХ, ФХ, ФЭ и ФК в тромбоцитах больных достоверно не отличалось от их уровня у здоровых, в то время как количество СМ при лейкозе значительно увеличилось ($P < 0,001$). По существу данным СМ не обладает свертывающей активностью [9, 17]. Напротив, имеются указания, что этот фосфолипид проявляет антикоагулянтную активность [7]. Следовательно, можно предположить, что увеличение процентного содержания СМ в общих фосфолипидах тромбоцитов, как неактивного компонента, может снижать

активность фактора 3 тромбоцитов. С увеличением количества СМ также могут быть связаны и антикоагулянтные свойства кровяных пластинок, наблюдаемые при лейкозе.

Таким образом, исследование липидного состава тромбоцитов у больных хроническим лейкозом выявило определенные изменения, которые могут быть одной из причин, обуславливающих нарушение функции тромбоцитов при данной патологии.

Анализ имеющихся немногочисленных исследований о значении фосфолипидов для функциональной активности тромбоцитов, а также полученные нами данные указывают на целесообразность углубленного исследования фосфолипидного состава кровяных пластинок, прежде всего при тех видах патологии, где наблюдается значительное нарушение функции тромбоцитов, в частности снижение их тромбопластической активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зубаиров Д. М. Биохимия свертывания крови. М., Медицина, 1978.— 2. Матвеев Л. А. Изучение морфологических и функциональных свойств тромбоцитов при различных формах лейкозов. Автореф. канд. дисс., Л., 1964.— 3. Шитикова А. С., Папаян Л. П. Пробл. гематол., 1970, 10.— 4. Bartlett G. J. Biol. Chem., 1959, 234, 3.— 5. Barton P. G. In: Platelet, drugs, thromb. Basel., 1975.— 6. Broekman M. Y., Nandin R. I., Derksin A., Cohen P. Blood, 1976, 47, 6.— 7. Cohen J., Reed C. F., Troup S. B. Thromb. Diath. Haemorrh., 1965, 13, 3.— 8. Folch J., Lees M. J. Biol. Chem., 1957, 266, 1.— 9. Gautheron P., Dumont E., Renard S. Thromb. Diath. Haemorrh., 1974, 32, 2/3.— 10. Haanen C., Wessels H., Badenhuysen H. Nouv. Rev. Franc. Hematol., 1973, 13, 4.— 11. Hemker H. C., Swart A. C. W. Exc. Med. 1974, Int. Congr. Ser., 336.— 12. Holmsen H. Trombos. Haemostas., 1977, 38, 4.— 13. Hoymand J. L., Brons K., Gornish J. Thromb. Diath. Haemorrh., 1969, 21, 3.— 14. Karaka M., Stefanini M. Am. J. Clin. Path., 1967, 48, 3.— 15. Kimelberg H. K. Biochim. biophys. Acta. 1972, 282, 77.— 16. Levey G. S., Klein J. J. Clin. Invest., 1972, 51, 3.— 17. Marcus T. J. Ibid., 1958, 37, 7.— 18. Marcus A. J., Ulman H. L., Sofier L. B. J. Lipid Res., 1969, 10, 2.— 19. Schick P. K., Yu B. P. Ibid., 1974, 54, 5.— 20. Schick P. K., Kurica K., Chacko G. K. Fed. Proc., 1975, 34, 1.— 21. Singer S. J., Nicholson G. Science, 1972, 175, 4023.— 22. Webber A. J., Johnson S. A. Am. J. Path., 1970, 60, 1.— 23. Weiss H. J. New Engl. J. Med., 1975, 293, 11.

Поступила 1 ноября 1978 г.

УДК 615.874.2:616.831.4

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕЧЕБНОГО ГОЛОДАНИЯ ПРИ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВАХ¹

И. Г. Соловей

Белорусский НИИ неврологии, нейрохирургии и физиотерапии (директор — чл.-корр. АМН СССР проф. И. П. Антонов), городской психоневрологический диспансер (главврач — С. А. Езерский) г. Минска

Реферат. Представлен клинический анализ лечебного голодания у 81 больного с гипоталамическими нарушениями. Положительный результат наблюдался у 89% больных. Более эффективным и безопасным признается дробное голодание.

Ключевые слова: гипоталамические расстройства, лечебное голодание.

1 таблица. Библиография: 4 названия.

Установлено, что лечебное голодание непосредственно связано с воздействием на лимбико-гипоталамо-ретикулярный комплекс [1]. Поэтому представляет интерес изучение воздействия лечебного голодания на больных с гипоталамическими расстройствами.

Нами проведен анализ результатов лечения голодом по методике Ю. С. Николаева (1970) 81 больного (47 женщин и 34 мужчин) с поражением гипоталамической области вследствие перенесенной нейроинфекции (74 чел.) и черепно-мозговой травмы (7 чел.). Диагноз гипоталамических расстройств основывался на трех принципах [3]: 1) учет патогномоничных симптомов и синдромов; 2) характерное сочетание гипоталамических синдромов, включающих в себя вегетативные и обменно-эндокринные расстройства; 3) учет неврологических церебральных симптомов, указывающих на поражение смежных областей. Данные клинического обследования подтверждались функциональными пробами и параклиническими исследованиями: ЭЭГ, РЭГ, биохимическими анализами крови (содержание гормонов, глюкозы, протромбина, мочевины, общего белка и др.).

¹ Статья публикуется в порядке дискуссии.