

ния, так и после него у этих больных отмечалось некоторое повышение БАЭЭ-эстеразной активности плазмы. Активность калликреина возрастала, приближаясь к контрольным показателям, и соответственно наступало снижение содержания калликреиногена.

Нарастание БАЭЭ-эстеразной активности и калликреина, а также уменьшение калликреиногена параллельно с умеренной активацией кининазы свидетельствуют об активации системы, участвующей в образовании кининов.

Консервативное лечение у больных с неосложненной формой облитерирующего атеросклероза, наряду с положительным сдвигом в системе гемокоагуляции, вызывает некоторую активацию калликреин-кининовой системы, что можно расценивать как положительный результат, способствующий расширению сосудов. Следовательно, комплексная консервативная терапия является патогенетически обоснованной у больных облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей на данной стадии заболевания.

Иначе обстоит дело у больных с осложненным течением заболевания (с трофическими язвами, трещинами, наличием гнойно-некротического процесса). После комплексного консервативного лечения у них отмечался лишь незначительный сдвиг некоторых показателей системы гемостаза в сторону нормализации. Наблюдались признаки активации калликреин-кининовой системы крови. На это указывало увеличение эстеразной активности плазмы и уменьшение содержания калликреиногена вследствие преобразования его в активный калликреин. Кининазная активность плазмы повышалась по сравнению с исходным уровнем.

Эти важные данные, по нашему мнению, необходимо учитывать при назначении комплексной терапии. Общие противосклеротические препараты, антикоагулянты, фибринолитики и средства, улучшающие реологию крови, должны оставаться обязательными компонентами комплексного лечения. Однако препараты или активаторы калликреин-кининовой системы (депод-калликреин, падутин, дальминал) следует включать в комплекс терапии при II и III стадиях заболевания, когда отсутствуют некротические и гнойно-воспалительные осложнения. У больных же с осложненными формами (IIIb стадия) нужно применять не активаторы, а ингибиторы — ангины и протектин.

У всех больных с недостаточностью артериального кровообращения эффективным оказалось включение в комплексное лечение оксигенирующей оксигенации и физиотерапевтических процедур, улучшающих циркуляцию крови и трофику тканей.

Таким образом, наблюдения за показателями гемостаза и калликреин-кининовой системы с учетом клинического течения болезни позволяют определять тактику лечения, прогнозировать ожидаемый эффект, а в ряде случаев прибегнуть к крайней мере — ампутации — в сроки, более безопасные для сохранения жизни больного.

Поступила 3 декабря 1982 г.

## ТЕРМИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ ТКАНЕВОГО ТРОМБОПЛАСТИНА

*Д. М. Зубаиров, Г. Ю. Свинтенко*

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

**Резюме.** Тепловая инаktivация тканевого тромбопластина является реакцией сложного порядка, включающей, помимо денатурации апопротенида, дезорганизацию липидных составных частей. При нагревании в аэробных условиях окисление тромбопластина также способствует его инаktivации. Хранение препаратов тканевого тромбопластина в анаэробных условиях увеличивает их биологическую стабильность.

**Ключевые слова:** тромбопластин, термическая инаktivация.

1 таблица, 3 иллюстрации. Библиография: 5 названий.

Тканевой тромбопластин является инициальным фактором свертывания крови по внешнему пути, в котором участвуют фактор VII и ионы кальция. По химической природе он липопротеид, фрагмент клеточных мембран [2]. Тканевой тромбопластин,

получаемый чаще всего из ткани головного мозга, широко используется в медицинской практике для определения протромбинового индекса и некоторых других гемостазиологических показателей. Выпускаемые препараты тканевого тромбопластина имеют ограниченный срок годности. Настоящее исследование направлено на изучение условий, влияющих на стабильность этих препаратов.

Препарат тканевого тромбопластина из мозга кролика получали по методу [5]. Суспензию тромбопластина готовили из расчета 10 мг/мл. В качестве субстрата использовали лиофилизированную оксалатную бычью плазму, содержащую 3,15 г/л фибриногена, а в качестве источника факторов VII и X — лиофилизированную нормальную сыворотку человека, которую смешивали с 0,1 М раствором оксалата натрия в соотношениях 9 : 1.

Тромбопластиновое время определяли по методу [4] со следующей модификацией. К 0,1 мл бычьей плазмы приливали 0,1 мл оксалатной сыворотки человека и 0,1 мл суспензии тромбопластина. Смесь инкубировали при 37° в течение 1 мин., затем приливали 0,2 мл 0,025 М раствора хлористого кальция и рассчитывали время появления сгустка.

Исследование процесса термической инактивации начинали с анализа динамики потери активности суспензии тромбопластина при температурах от 0 до 100°. При температурах от 0 до 40° инактивация при кратковременной инкубации в пределах часа практически не наблюдается. Динамика инактивации при температурах от 60 до 100° при доступе воздуха представлена на рис. 1.

Кинетический анализ показал, что константы скорости инактивации тромбопластина при 60 и 100° уменьшаются с течением времени, и процесс термической инактивации не может быть описан как реакция I или II порядка, то есть порядок реакции термической инактивации является более сложным.

Известно, что даже реакции термической инактивации ферментов, имеющих чисто белковую природу, в редких случаях следуют кинетике I порядка [1]. Инактивация тканевого тромбопластина, имеющего сложную липопротеидную природу, априорно может складываться из нескольких промежуточных стадий, включающих инактивацию белковой и липидной частей. При термической инактивации в присутствии воздуха, кроме денатурационных изменений, может происходить окисление кислородом воздуха.

Рис. 1. Динамика тепловой инактивации тканевого тромбопластина. По оси ординат — активность тромбопластина в lg-шкале; по оси абсцисс — время в мин.

При тех же температурах нами были рассчитаны величины энергии активации процесса инактивации по методу Паттона (1968). Эти величины колебались в пределах от 17 до 49 кДж/моль, что значительно ниже величин 167—419 кДж/моль, приводимых Паттоном для инактивации чисто белковых ферментов. Полученный результат позволяет предположить, что в процессе инактивации тканевого тромбопластина, помимо денатурации апопротеида, происходит менее энергоемкая потеря упорядоченности липидного компонента.

Для препаратов тканевого тромбопластина, инактивированных инкубацией при температурах 0, 40, 60 и 100° в течение 20 мин на образцах субстратной плазмы, растворенных в 3,15 г/л растворе фибриногена, были определены кинетические параметры по методу Скоттгарда (см. табл.).

Кинетические параметры препарата тканевого тромбопластина

Показатель		Температура инактивации			
		0	40	60	100
$V_{max}$	(сек <sup>-1</sup> )	0,032	0,028	0,018	0,014
$K_d$	(М)	$4,519 \cdot 10^{-9}$	$4,378 \cdot 10^{-9}$	$4,284 \cdot 10^{-9}$	$4,008 \cdot 10^{-9}$

Как видно из таблицы и рис. 2, тепловая денатурация тканевого тромбопластина при 60 и 100° приводит к уменьшению  $V_{max}$  и не сопровождается изменением  $K_d$ , что в первом приближении указывает на то, что при инактивации уменьшается число каталитически активных центров на поверхности липопротеидных мембран, а сред-

ство оставшихся центров к субстратам существенно не изменяется.

Для выявления вклада окислительных реакций была изучена термическая инаktivация тканевого тромбопластина при 60 и 100° после 5-минутного пропускания азота через суспензию тромбопластина (рис. 3).

Как видно из рис. 3, в атмосфере азота термическая инаktivация тканевого тромбопластина происходит медленнее, чем на воздухе. Но и после устранения атмосферного кислорода порядок реакции процесса инаktivации продолжает оставаться сложным.

Исследования показывают, что инаktivация тромбопластина на воздухе является сложным процессом, в котором, наряду с денатурацией белкового компонента и окислительными реакциями, имеет значение дезорганизация липопротеидных ансамблей, из которых состоит этот инициальный фактор свертывающей системы крови. Хранение препаратов тканевого тромбопластина в анаэробных условиях увеличивает их биологическую стабильность.

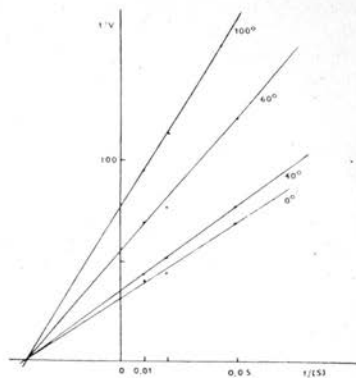


Рис. 2. График Лайнуивера—Бэрка.

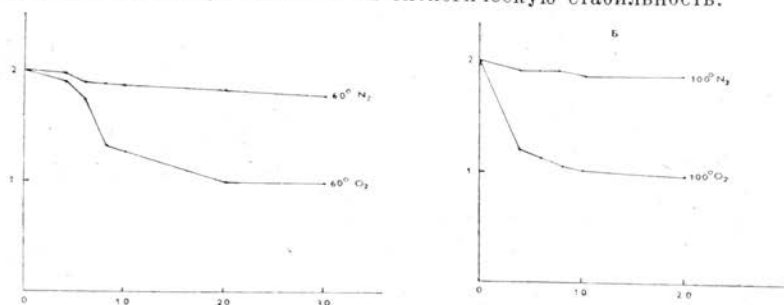


Рис. 3. Динамика тепловой инаktivации тканевого тромбопластина в атмосферном воздухе и азоте.

По оси ординат — активность тромбопластина в lg-шкале; по оси абсцисс — время в мин. А — температура инаktivации 60°, Б — температура инаktivации 100°.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Жоли М. Физическая химия денатурации белков. М., Мир, 1968.
2. Зубаиров Д. М. Биохимия свертывания крови. М., Медицина, 1978.
3. Паттон А. Энергетика и кинетика биохимических процессов. М., Мир, 1968.
4. Koller F., Leliger A., Duckert F. Acta haemat., 1951, 6, 1.
5. Thies H. A. Menschliche und tierische Gewebstrombokinasen. Georg Thieme Verlag. Stuttgart, 1957.

Поступила 18 ноября 1982 г.

УДК 577.157.2

### ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВОЙ ЧАСТИ ТРОМБОПЛАСТИНА (ФАКТОРА III) НА ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ФАКТОРАМИ VII И V

Р. Ф. Байкеев, Г. Ш. Ченборисова

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

**Реферат.** Было изучено влияние ферментативной модификации белковой части тромбопластина на его взаимодействие с факторами VII и V. Показано, что действие папаина на апопротеин нарушает взаимодействие указанных факторов с тромбопластином, в результате образуется активатор фактора X с меньшей активностью, чем до модификации.