

изменяется белково-липидное взаимодействие в тромбопластине и, как результат, нарушается взаимодействие тромбопластина с факторами VII и V.

Возможно, модификация белковой части тканевого тромбопластина отражается не только на взаимодействии с факторами VII, V, но и с протромбином и фактором X. Это вполне вероятно, так как, согласно матричной гипотезе свертывания крови [4], факторы VII, V, X и протромбин в присутствии Ca^{2+} образуют функциональный ансамбль на поверхности осколков клеточных мембран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байкеев Р. Ф. В кн.: Тезисы докладов V Всесоюзного симпозиума «Синтетические полимеры медицинского назначения». Рига, 1981.—2. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. М., изд-во «Иностранная литература», М., 1961.—3. Зубаиров Д. М., Грицук Г. Н., Владимиров Л. Ф. и др. В кн.: Система свертывания крови и фибринолиз. Киев, Здоровь, 1969.—4. Зубаиров Д. М. Казанский мед. ж., 1977, 6.—5. Зубаиров Д. М., Соболева И. В., Важинская З. В. и др. Биохимия, 1981, 7.—6. Фишер Р. А. Статистические методы для исследователей, М., 1958.—7. Bjorklid E., Storm E., Prydz H. Biochem Biophys Res. Commun., 1973, 55, 3.—8. Bjorklid E., Storm E., Biochem. J., 1977, 165, 1.—9. Fujikawa K., Titani K., Davie E. W. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1975, 72, 9.—10. Gaudiner I. E., Howell R. M. Biochem. Soc. Trans., 1981, 9, 1.—11. Greenquist A. C., Colman R. W. Blood, 1975, 46, 5.—12. Lindhout M., Gower-Riemslog J., Rosing J., Hemker H., Thromb. and Haemost., 1981, 46, 1.—13. Lindquist P. A., Fujikawa K., Davie E. W. J. Biol. Chem., 1978, 253, 6.—14. Liy D. T. H., McCoy L. E., Thromb. Res., 1975, 7, 1.—15. Lyberg T., Prydz H., Biochemistry, 1981, 194, 3.—16. Nemerson Y., Esnouf M. P. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1937, 70, 2.—17. Osterud B., Rapaport S. I. Jbid. 1977, 74, 12.—18. Osterud B., Bögwald J., Lindahl U., Seljelie R., FEBS Lett, 1981, 127, 1.—19. Parahadjopoulos D., Hongie C., Nanahan D. J. Biochemistry, 1964, 3, 2.—20. Prydz H., Allison A. C. Thromb. and Haemost., 1978, 39, 3.—21. Williams W. J., Norris D. G., J. Biol. Chem., 1965, 241, 8.—22. Wolf P. A. J. Clin. Path., 1953, 6, 1.—23. Zwaal R. F. A., Biochim. et biophys. acta, 1978, 515, 1.

Поступила 1 декабря 1982 г.

УДК 611—018:[577.153.35+577.157.2]—07:577.15.082

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ 5'-НУКЛЕОТИДАЗНОЙ И ТРОМБОПЛАСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В ТКАНЯХ ЧЕЛОВЕКА

В. И. Кузнецов

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

Реферат. Изучено распределение активности 5'-нуклеотидазы и тромбопластической активности в тканях человека. Наибольшая активность 5'-нуклеотидазы и тканевого тромбопластина установлена в микросомальной фракции. При гомогенизации активность 5'-нуклеотидазы и тканевого тромбопластина не разделялась. Мембранные структуры эндотелия аорты обладают наибольшей 5'-нуклеотидазной и тромбопластической активностью по сравнению с мембранной фракцией среднего слоя аорты.

Ключевые слова: энзимодиагностика, 5'-нуклеотидаза, тканевой тромбопластин.

1 таблица. Библиография: 12 названий.

Одним из основных применений диагностической энзимологии в настоящее время является измерение концентраций ферментов в сыворотке крови с целью обнаружения острого или хронического повреждения клеток. Определение активности сывороточной 5'-нуклеотидазы широко используется для диагностики гепатобилиарных заболеваний [9, 10]. Экспериментально и в клинических наблюдениях обнаружено значительное повышение активности 5'-нуклеотидазы в плазме крови при остром инфаркте миокарда. При изучении динамики активности 5'-нуклеотидазы в плазме крови было предположено, что фермент является индикатором поступления в кро-

воток из пораженного миокарда фрагментов клеточных мембран, обладающих тромбопластической активностью и вызывающих внутрисосудистое свертывание крови [2, 3, 5].

Для более полной клинической интерпретации этого ферментного теста необходимо учитывать количественное распределение фермента 5'-нуклеотидазы и тканевого тромбопластина в тканях организма и их локализацию в субклеточных структурах. В связи с этим в настоящем исследовании была поставлена задача изучить тканевое и внутриклеточное распределение 5'-нуклеотидазы и тканевого тромбопластина в организме человека.

Исследованы ткани 18 трупов внезапно умерших людей в возрасте от 17 до 40 лет. Время от момента смерти до взятия материала составляло от 10 до 24 ч. Ткани гомогенизировали на холоде в 10 объемах 0,25 М раствора сахарозы pH 7,4 в стеклянном гомогенизаторе Поттера—Эльвегейма с тефлоновым пестиком в течение 3 мин при 2000 об./мин. Ткани скелетной мышцы, миокарда, миометрия и печени предварительно пропускали через тканевой пресс [1].

В среду для размельчения ткани печени добавляли 0,001 М ЭДТА и гомогенизировали движениями тефлонового пестика рукой вверх—вниз 15—20 раз. Фракцию микросом получали ультрацентрифугированием постмитохондриальной надосадочной жидкости при 100 000g · 10 мин в угловом роторе центрифуги VAK-60. Фракцию плазматических мембран клеток печени выделяли ультрацентрифугированием постядерного супернатанта в ступенчатом градиенте плотности сахарозы в бакет-роторе центрифуги VAK-60 [12].

Активность 5'-нуклеотидазы определяли по Кемпбеллу (1962). О тромбопластической активности гомогената и субклеточных фракций судили по ускорению времени свертывания лиофилизированной бестромбоцитарной цитратной бычьей плазмы [4]. За единицу тромбопластической активности принимали активность тромбопластина Каунасского предприятия бакпрепаратов (серия 220381, 111, 1982 г.). Белок определяли методом Лоури с использованием бычьего альбумина в качестве стандарта [11]. Удельную тромбопластическую активность выражали в единицах в расчете на 1 г белка. Результаты исследований статистически анализировали по Фишеру (1958).

5'-нуклеотидазная и тромбопластическая активность в тканях человека

Ткань	Фракция	Удельная активность на г белка	
		тромбопластич. ед.	5'-нуклеотидаза, нкат
1	2	3	4
Головной мозг (белое вещество)	1	86,7±10,4	91,3±9,0
	2	106,0±9,8	379,6±32,8
	3	185,3±16,6	96,3±13,9
Предстательная железа	1	75,6±23,3	917,7±203,3
	2	125,9±19,2	1839,3±236,9
	3	16,7±2,9	1136,7±221,4
Легкое	1	34,9±6,2	100,4±16,7
	2	77,7±9,4	467,7±67,2
	3	5,6±0,9	38,7±6,2
Щитовидная железа	1	24,7±6,4	120,6±12,5
	2	72,8±11,7	573,6±60,0
	3	3,8±0,8	75,7±9,3
Сердце (миокард)	1	44,0±4,0	51,7±4,4
	2	60,3±12,5	174,1±22,0
	3	9,8±1,5	33,6±3,8
Надпочечник (мозговое вещество)	1	22,2±2,2	104,0±7,2
	2	37,7±4,1	268,4±35,3
	3	10,0±1,3	98,5±15,9
Аорта (интима)	1	11,7±1,3	238,0±26,1
	2	37,1±6,0	796,0±90,5
	3	2,1±0,9	158,0±20,3

В таблице представлено распределение удельной активности 5'-нуклеотидазы и удельной тромбопластической активности в субклеточных фракциях органов человека. Как видно из полученных данных, во всех тканях наибольшая активность 5'-нуклеотидазы и тканевого тромбопластина обнаружена в микросомальной фракции, содержащей плазматические и эндоплазматические мембраны. По удельной активности 5'-нуклеотидазы в микросомальной фракции ткани можно расположить следующим образом: скелетная мышца < почка < сердце < поджелудочная железа < надпочечник < головной мозг < печень < легкие < селезенка < матка < щитовидная железа < эндотелий аорты < предстательная железа. Порядок возрастания удельной тромбопластической активности следующий: поджелудочная железа < скелетная мышца < печень < селезенка < почка < эндотелий аорты < надпочечник < матка < сердце < щитовидная железа < легкие < головной мозг < предстательная железа.

Как известно, фермент может служить маркером, если он прочно связан с определенными субклеточными структурами [6]. Для оценки прочности связи 5'-нуклеотидазы с мем-

1	2	3	4
Почка (корковое вещество)	1	15,4±0,9	46,5±5,1
	2	26,5±3,2	167,4±12,3
	3	3,2±0,7	12,8±4,1
Селезенка	1	12,5±0,5	88,7±13,8
	2	20,1±0,9	477,4±68,0
	3	7,6±1,5	42,6±5,8
Печень	1	0,56±0,04	103,5±11,2
	4	2,8±0,07	119,6±10,6
	5	3,8±0,2	182,5±13,5
	6	12,2±0,9	451,9±9,9
	3	5,7±1,6	294,0±15,0
Матка (миометрий)	1	11,4±2,2	309,0±47,1
	2	35,6±2,0	550,2±52,6
Мышца (скелетная)	1	7,2±1,4	26,6±3,3
	2	10,2±0,9	71,0±11,3
	3	5,3±0,7	7,8±3,3
Поджелудочная железа	1	0,97±0,23	117,3±9,6
	2	0,54±0,3	232,6±22,7
	3	7,7±1,5	217,0±14,7

Примечание. 1 — цельный гомогенат, 2 — фракция микросом, 3 — супернатант, 4 — фракция митохондрий, 5 — фракция лизосом, 6 — фракция плазматических мембран.

Дазы и удельная тромбопластическая активность подобного осадка, полученного при ультрафильтрации супернатанта среднего слоя аорты, составили соответственно 68,7% и 54% активности осадка мембран эндотелия.

Предстательная железа резко отличается от других органов высокой активностью 5'-нуклеотидазы как в гомогенате (917 нкат/г белка), так и в микросомной фракции (1839 нкат/г белка). Активность 5'-нуклеотидазы в супернатанте предстательной железы остается высокой (1136,7 нкат/г белка), тогда как в других органах активность фермента в супернатанте не превышает 300 нкат/г белка.

Наибольшая тромбопластическая активность тканей отмечена в гомогенате головного мозга (86 ед./г белка), но среди микросомных фракций наиболее активная получена из ткани предстательной железы. Увеличение 5'-нуклеотидазной активности фракции микросом по сравнению с гомогенатом наблюдалось во всех органах, как и увеличение тромбопластической активности.

Осколки мембран, обладающие тромбопластической активностью, образуются при разрушении не только плазматической, но и любой другой клеточной мембраны. Фермент 5'-нуклеотидаза, вмонтированный в плазматическую мембрану клетки, невозможно отделить от тромбопластической активности даже при жесткой гомогенизации. Этот факт говорит о том, что осколки плазматической мембраны, попадающие в кровоток при повреждении клетки, могут проявлять тромбопластическую активность. Исключение составляет лишь ткань предстательной железы, где, кроме мембраносвязанной 5'-нуклеотидазы, имеется и растворимая форма фермента.

Таким образом, повышение активности 5'-нуклеотидазы в плазме крови является надежным признаком поступления в кровоток тромбопластически активных плазматических мембран.

ВЫВОДЫ

1. Активность 5'-нуклеотидазы и тромбопластическая активность локализованы в мембранных структурах клеток тканей человека.

2. Активность 5'-нуклеотидазы и тромбопластическая активность не разделяются даже при жесткой гомогенизации.

3. Фермент 5'-нуклеотидаза может служить маркером тромбопластической активности при определении в плазме крови.

4. В тканях аорты человека наибольшая активность 5'-нуклеотидазы и тромбопластическая активность локализованы в мембранных структурах эндотелиальных клеток.

бранами эндотелиальных клеток аорты человека были проведены механическая дезинтеграция ткани, фракционирование и фильтрация гомогената через мембранный фильтр Синпор-8 (ЧССР) с размером пор 0,25 мкм. Обнаружено, что 5'-нуклеотидазная и тромбопластическая активность задерживаются фильтром. Ультрафильтрат был полностью лишен активности 5'-нуклеотидазы и тромбопластической активности.

Активность 5'-нуклеотидазы и тромбопластическая активность в тканях аорты человека локализованы главным образом в мембранной фракции эндотелиальных клеток интимы. Осадок на фильтре, состоящий из фрагментов мембран эндотелия размером более 0,25 мкм, не осевших после 30-минутного центрифугирования при 100 000 g, обладал наибольшей удельной активностью 5'-нуклеотидазы (851±45 нкат/г белка) и удельной тромбопластической активностью (61,0 ± 4,5 ед./г белка).

Удельная активность 5'-нуклеотидазы и удельная тромбопластическая активность подобного осадка, полученного при ультрафильтрации супернатанта среднего слоя аорты, составили соответственно 68,7% и 54% активности осадка мембран эндотелия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бахтиярова Р. М. Лаб. дело, 1969, 12.—2. Зубаиров Д. М., Шербатенко-Лушникова Л. А., Андрушко И. А. и др. В кн.: Противотромботическая терапия в клинической практике. М., 1979.—3. Зубаиров Д. М., Андрушко И. А., Латфуллин И. А. и др. Кардиология, 1981, 8.—4. Зубаиров Д. М., Соболева И. В., Важинская З. В. и др. Биохимия, 1981, 7.—5. Зубаиров Д. М., Шербатенко-Лушникова Л. А., Андрушко И. А. и др. Тер. арх., 1981, 8.—6. Соттоказа Дж. В кн.: Биохимическое исследование мембран. М., Мир, 1979.—7. Фишер Р. А. Статистические методы для исследователей. М., 1958.—8. Campbell D. M. Biochem. J. 1962, 82, 34.—9. Goldberg D. M. Front gastroint. Res, Basel, 1976, 2, 71.—10. Hobbs I. R., Campbell D. M., Sheuer P. I. In: 6-th Int. Congr. Clin. Chem., Munich, 1968, v. 2.—11. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Farr A. L. a. o. G. biol. Chem., 1951, 193.—12. Seymour C. A., Neal G., Peters T. S. Biochem. Soc. trans, 1974, 2, 1101.

Поступила 9 ноября 1982 г.

УДК 617.51+616.831]—001—078.839:577.15.82

ТРОМБОПЛАСТИНЕМΙΑ У БОЛЬНЫХ С ОСТРОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

И. А. Андрушко, Е. М. Евсеев

Кафедра биохимии (зав.—проф. Д. М. Зубаиров), Центральная научно-исследовательская лаборатория (зав.—канд. мед. наук Р. Х. Ахметзянов), кафедра нейрохирургии (зав.—докт. мед. наук Х. М. Шульман) Казанского ордена Трудового Красного Знамени медицинского института им С. В. Курашова и городская клиническая больница № 15 (главврач — Р. И. Тушев)

Реферат. Изучена в динамике активность 5'-нуклеотидазы крови и состояние системы гемокоагуляции у 47 больных с острой черепно-мозговой травмой. Установлено повышение активности 5'-нуклеотидазы крови во всех наблюдениях, прямо коррелирующее со степенью внутрисосудистой активации свертывающей системы крови. Предполагается, что главной причиной этих сдвигов является поступление тромбопластина из очагов деструкции мозговой ткани, индикатором которого служит повышенная активность 5'-нуклеотидазы крови.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, 5'-нуклеотидаза, гемокоагуляция. 4 таблицы. Библиография: 11 названий.

Черепно-мозговая травма сопровождается нарушениями коагуляционных свойств крови [2, 4, 5]. В последнее время появились сведения о возможности развития диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС) при черепно-мозговой травме [3, 7, 11]. Наиболее вероятной причиной активации свертывающей системы крови при черепно-мозговой травме может быть поступление тканевого тромбопластина в кровоток из очагов поврежденного мозга. Данное исследование проведено для проверки этой гипотезы путем поиска в крови фрагментов клеточных мембран, обладающих тромбопластической активностью. Ранее нами было показано, что 5'-нуклеотидаза крови является индикатором поступления в кровоток фрагментов клеточных мембран [3]. В связи с этим мы изучали динамику изменения активности 5'-нуклеотидазы плазмы крови в остром периоде черепно-мозговой травмы.

Под наблюдением находилось 47 больных с острой черепно-мозговой травмой (41 мужчина и 6 женщин в возрасте от 18 до 50 лет). Выделены три клинические группы. В 1-ую группу вошли больные с ушибами головного мозга легкой степени (10), во 2-ую — со средней степенью тяжести (12), в 3-ю — больные с тяжелой степенью ушиба головного мозга (25). Контрольная группа была составлена из 15 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 30 лет.

В контрольной группе и у всех пострадавших определяли время свертывания цельной крови по Ли—Уайту, время рекальцификации плазмы по Бергерхофу, протромбиновый индекс по Квику, концентрацию фибриногена по Рутберг, фибринолитическую активность по Ковальскому с соавт., тромботест по Фуэнта—Ита, количество тромбоцитов по Фонио, растворимые комплексы фибрин-мономера в крови