

Summary

The correlation of our results and well-

known experimental data with theoretical conceptions of molecular mechanisms of the initiation of external coagulant blood system is performed.

УДК 612.112.31+612.115+612.112.3

ФИБРОНЕКТИН, ГЕМОСТАЗ И ФАГОЦИТОЗ

Р. И. Литвинов

Кафедра биохимии (зав.— акад. АНТ, проф. Д. М. Зубаиров)
Казанского медицинского института

Известно, что важнейшая роль в поддержании гомеостаза и неспецифической защите организма принадлежит совокупности клеток и гуморальных агентов, осуществляющих процессы гемостаза и фагоцитоза. Каждый из этих механизмов в отдельности изучен весьма подробно, однако сравнительно мало известно об их взаимодействии между собой, от которого может существенно зависеть интегральная реакция организма на повреждение. Одним из материальных связующих звеньев между фагоцитами и компонентами системы гемостаза может служить белок фибронектин, доказательством этого являются приводимые ниже данные.

Фибронектин (ФН) представляет собой гетерогенную популяцию молекул, незначительно отличающихся по структуре, но выполняющих разные функции в зависимости от места синтеза и локализации. Одна из форм этого белка присутствует в крови в концентрации около 0,3 г/л и известна под названием плазменного ФН. Его отличительной чертой является способность к множественным взаимодействиям с разнообразными макромолекулами, в том числе с такими, которые прямо или косвенно причастны к гемостатическим процессам.

Первыми тромбогенными веществами, для которых было показано высокое средство к ФН, оказались фибриноген и фибрин-мономер [16, 18]. Однако особенность подобных исследований состоит в том, что связывание ФН с фибриногеном и фибрин-мономером демонстрируется либо в осадке, что не исключает возможности неспецифического соосаждения белков, либо в гетерофазной системе, далекой от физиологических условий. Из полученных нами данных следует, что взаимо-

действие ФН с предшественниками фибрина существует и в растворе. Модельные опыты прямо указывают на включение плазменного ФН в состав растворимых комплексов фибрин-мономера (РКФМ) в процессе активации системы свертывания крови. Важно подчеркнуть, что комплексообразование ФН происходит как при ингибировании фактора XIIIa, так и с его участием. Иными словами, ковалентной шивке ФН предшествует его нековалентное присоединение к растворимым предшественникам фибрина (неопубликованные данные).

В чистой системе, содержащей фибриноген, ФН и фактор XIIIa, происходило образование сополимера ФН и фибриногена, названного гетеронектином [15]. При концентрации ФН, которая соответствует его нормальному содержанию в плазме, фибриноген образовывал олигомеры различной длины, вплоть до гептамера, прежде чем присоединялась молекула ФН. Растворимые ковалентно сшитые комплексы ФН с фибриногеном обнаружены также в плазме крови пациентов с лейкозом; при этом фракция ФН, выявляемая методом перекрестного иммуноэлектрофореза в составе растворимых комплексов с фибрин(оген)ом, была названа фибронектином С [11].

Совокупность приведенных данных убедительно подтверждает, что плазменный ФН способен взаимодействовать с фибриногеном и, особенно, с промежуточными продуктами его превращения в фибрин. Возникает естественный вопрос о том, каково физиологическое значение этого взаимодействия.

Первая гипотеза связана с предположением о воздействии ФН на скорость и полноту образования фибринового сгустка. Известно, что много-

ступенчатый процесс превращения фибриногена в фибрин чувствителен ко многим веществам, воздействие которых приводит к ускорению или замедлению полимеризации. Предположение об антиполимеризационном эффекте ФН обосновано в двух известных нам работах. В одной из них [10] описана способность ФН соединяться с мономерами и/или олигомерами фибрина в растворе и таким образом предупредить их осаждение. В другой [13] обнаружено прямое ингибирующее действие ФН на превращение фибриногена в фибрин как в плазме, так и в чистой системе. Однако другие исследователи не подтвердили этих результатов. Так, было убедительно показано, что ФН не влияет ни на скорость высвобождения фибринопептидов, ни на время свертывания фибриногена тромбином. Оспорено также представление о том, что ФН способен эффективно удерживать растворимые формы фибрина от полимеризации [12, 14], и показано, что его вовлечение в процесс фибринообразования происходит лишь на самых поздних этапах, когда гель уже начал формироваться. В полном соответствии с этими выводами нами также было показано, что в отсутствие фактора XIIIa ФН включается в процесс превращения фибриногена в фибрин только на стадии агрегации протомфибрилл и/или формирования геля фибрина, причем предотвратить или замедлить эти процессы ФН не способен [5]. Ингибирующий эффект ФН на свертывание фибриногена тромбином также не подтвердился. Таким образом, гипотеза об антиполимеризационном эффекте ФН не имеет достаточных оснований, хотя убедительно объяснить противоречивость результатов по этому вопросу не представляется возможным.

В полном соответствии с модельными экспериментами *in vitro* по взаимодействию плазменного ФН с производными фибриногена установлено, что изменения уровня плазменного ФН в раннем периоде экспериментальной ожоговой или черепно-мозговой травмы тесно коррелируют с биохимическими проявлениями синдрома ДВС. Гипофибронектинемия по своей величине и срокам развития совпадает прежде всего с потреблением коагулируемого фибриногена и активацией фибринолиза; эти же показатели об-

наруживают наибольшую степень взаимосвязи с уровнем плазменного ФН при разрешении синдрома ДВС. Отсюда следует, что плазменный ФН специфически вовлекается в процесс внутрисосудистого фибринообразования, вероятнее всего, в качестве составной части РКФМ и фибрина [4, 7].

Анализ литературных и собственных данных наводит на мысль о том, что наиболее вероятным физиологическим следствием комплексобразования ФН с растворимыми олигомерами фибрина может быть их ускоренная элиминация из системного кровотока посредством фагоцитов, циркулирующих в крови или контактирующих с кровью. Другими словами, логично предположить, что ФН может распространять свои опсонические свойства и на тромбогенные частицы, к числу которых относятся комплексы фибрин-мономера. Фактическими основаниями для этого предположения являются, во-первых, функциональная взаимосвязь между уровнем плазменного ФН, показателями гемостаза и морфофункциональным состоянием клеток РЭС и, во-вторых, способность ФН и его фрагментов специфически сорбироваться фагоцитами и таким образом обеспечивать элиминацию тромбогенных частиц из кровотока.

Морфофункциональное состояние клеток Купфера, поглотительная способность РЭС, состояние системы гемостаза и уровень плазменного ФН изучались нами в динамике ожогового шока, при котором эти показатели подвержены наиболее отчетливым изменениям. Установлено, что экспериментальная термическая травма у подавляющего большинства животных вызывает закономерные изменения уровня ФН в крови, которые заключаются в резком снижении концентрации и биологической активности ФН в торпидной фазе шока и выраженной реактивной гиперфибронектинемии у выживающих животных при выходе из шокового состояния, что само по себе косвенно указывает на патогенетическую значимость плазменного ФН в остром периоде ожоговой болезни [1]. При этом изменения уровня плазменного ФН по времени и степени выраженности в целом коррелируют с признаками нарушения системы гемостаза, с одной стороны, и повреждением и угнетением РЭС — с другой. Гипофибронектинемия сочетается с

проявлениями острого синдрома ДВС в фазе коагулопатии потребления, ультраструктурными признаками повреждения звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (клеток Купфера) и угнетением интегральной поглотительной способности РЭС. Гиперфибронектинемия, напротив, совпадает с биохимическими и морфологическими признаками нормализации системы гемостаза и морфофункционального состояния мононуклеарных фагоцитов. Описанные изменения, как нам кажется, отражают существование функциональной взаимосвязи, опосредуемой плазменным ФН, между системой гемостаза и РЭС, которая проявляется в условиях патологии, сопровождающейся чрезмерной внутрисосудистой активацией системы гемостаза [6, 7].

Если плазменный ФН действительно выполняет роль опсонина в реакциях фагоцитоза тромбогенных частиц, какими являются растворимые предшественники фибрина, то на поверхности клеток РЭС должны существовать специфические рецепторы для ФН. Поскольку наличие таких рецепторов было показано для моноцитов, есть все основания предполагать, что и другие мононуклеарные фагоциты содержат на своей поверхности аналогичные структуры, способные «узнавать» объекты фагоцитоза, опсонизированные плазменным ФН. Данная гипотеза была доказана в экспериментах по прямому взаимодействию частиц, покрытых гомологичным ФН, с альвеолярными макрофагами. Оказалось, что это взаимодействие усиливается в присутствии ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , частично подавляется гепарином и полностью исчезает после предварительной обработки клеток трипсином, что указывает на наличие на мембране фагоцитов специфических белковых рецепторов к ФН [5]. Этот вывод, а также значение ФН-рецепторов для элиминации тромбогенных частиц были подтверждены результатами прямого изучения связывания меченого фибрин-мономера с макрофагами через фрагмент молекулы ФН [9].

По-видимому, ФН-зависимый фагоцитоз, в том числе и тромбогенных веществ и надмолекулярных образований, может протекать также с участием нейтрофилов, поскольку они тоже содержат на своей поверхности белки, способные специфически связываться с плазменным ФН [2], что

вызывает при этом активацию внутриклеточного метаболизма [3].

Концепция посреднической роли плазменного ФН между системой гемостаза и фагоцитами, вытекающая как из наших экспериментальных данных, так и из литературных источников, может быть сформулирована следующим образом. Экстремальная патология, какой в нашем случае является тяжелое термическое и механическое повреждение, вызывает взаимно обусловленные изменения в системе гемостаза и РЭС при опосредованном участии ФН. Принимая во внимание роль ФН как неспецифического опсонина, активно участвующего в элиминации из кровотока посредством РЭС патологических микрочастиц, мы можем предположить, что в остром периоде экстремального состояния ФН выступает связующим звеном между системой гемостаза и РЭС, способствуя удалению тромбогенных компонентов из крови и уменьшению выраженности синдрома ДВС. По мере разрушения и расходования ФН происходят ослабление функции РЭС и пролонгирование коагулопатии с формированием порочного круга. Эти процессы, вызванные шокогенными повреждениями, в свою очередь, оказывают неблагоприятное влияние на течение и исход основного патологического процесса, обуславливая в совокупности с другими причинами высокую летальность в начальном периоде шока. При выходе из шока повышается уровень ФН в крови сопровождается уменьшением выраженности синдрома ДВС, что, в свою очередь, способствует увеличению опсонического потенциала крови. Не исключено, что РЭС и нейтрофилы могут оказывать обратное влияние на уровень ФН, так как они обладают способностью синтезировать и секретировать этот белок [8, 17].

Таким образом, полученные данные подтверждают гипотезу, что плазменный ФН может выступать материальным связующим звеном между системой гемостаза и фагоцитами, образуя вместе с ними антитромботический механизм, препятствующий чрезмерной внутрисосудистой активации системы гемостаза при патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ермолин Г. А., Литвинов Р. И., Харин Г. М. и др. // Тер. арх.— 1984.— № 6.— С. 33—35.

2. Зинкевич О. Д., Литвинов Р. И., Куравская М. С. // Бюлл. экспер. биол.—1982.— № 7.—С. 86—88.

3. Зинкевич О. Д., Сафина Н. А., Харрасов А. Ф., Мингазова А. Х. // Вопр. мед. химии.—1990.— № 2.—С. 53—56.

4. Литвинов Р. И., Грубер Н. М., Ощепкова С. Ф. и др. // Ортопед. травматол.—1990.— № 12.—С. 51—54.

5. Литвинов Р. И., Зинкевич О. Д., Зубаурова Л. Д. // Цитология.—1983.— № 10.—С. 1185—1190.

6. Харин Г. М., Литвинов Р. И. // Пат. физиол.—1985.— № 2.—С. 93—94.

7. Харин Г. М., Литвинов Р. И. // Пат. физиол.—1988.— № 4.—С. 41—45.

8. Hoffstein S. T., Weissmann G., Pearlstein E. // J. Cell. Sci.—1981.— Vol. 50.— P. 315—327.

9. Hormann H., Richter H., Jelinic V. // Thrombos. Res.—1985.— Vol. 38.— P. 183—194.

10. Kaplan J. E., Snedeker P. W., Baum S. H. et al. // Thrombos. Haemostas.—1983.— Vol. 49.— P. 217—223.

11. Klingemann H.-G., Kosukavak M., Hojeler H., Havemann K. // Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.—1983.— Vol. 364.— 264—277.

12. Krell W., Mann I., Heimberger N., Muller-Berghaus G. // Thrombos. Res.—1981.— Vol. 23.— P. 41—50.

13. Niwiarowska J., Cierniewska C. S. // Thrombos. Res.—1982.— Vol. 27.— P. 611—618.

14. Okada M., Blomback B., Chang M. D., Horowitz B. // J. Biol. Chem.—1985.— Vol. 260.— P. 1811—1820.

15. Procyk R., Blomback B. // Biochim. Biophys. Acta.—1988.— Vol. 967.— P. 304—313.

16. Stemberger A., Hormann H. // Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.—1976.— Vol. 357.— P. 1003—1005.

17. Tsukamoto G., Hesel W. E., Wake S. M. // J. Immunol.—1981.— Vol. 127.— P. 673—678.

18. Zubairov D. M., Litvinov R. I. // Thrombos. Res.—1981.— Vol. 21.— P. 226—236.

Поступила 20.01.94.

FIBRONECTIN, HEMOSTASIS AND PHAGOCYTOSIS

R. I. Litvinov

Summary

On the basis of experimental and literature data a hypothesis is proposed that plasma fibronectin serves as a mediator between hemostasis and RES. Fibronectin is thought to be an opsonic factor in the elimination of thrombogenic particles from blood flow. As an example of thrombogenic particles soluble fibrin precursors covalently bound to plasma fibronectin are examined. Interrelated changes of plasma fibronectin level, DIC signs, and alterations of the Kupfer cells' morphologic-and-functional state are in favor of the hypothesis. The idea is also proved by the presence of specific protein receptors for fibronectin on the surface of mononuclear phagocytes and neutrophils. It is suggested that plasma fibronectin and phagocytes represent a united antithrombotic mechanism which prevents excessive intravascular activation of hemostatic system in pathology.

УДК 616.155.3—008.13

КЛИНИЧЕСКИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ ФАГОЦИТОЗА

О. И. Пикуза, А. Н. Маянский

Кафедра детских болезней № 1 (зав.—проф. О. И. Пикуза)
Казанского медицинского института

Как известно, учение о фагоцитозе было инспирировано стремлением понять устойчивость организма к агрессивным, прежде всего инфекционным агентам. Сегодня это лишь часть фагоцитарной доктрины, ее классическая основа, которая, подобно другим иммунологическим концепциям, служит базисом для изучения комплекса фундаментальных и прикладных проблем медицины. Для современных работ по фагоцитозу, кроме феноменологического анализа, характерно стремление к расшифровке молекулярных основ реакции. Суть в том, что фагоциты рассматриваются сегодня не только как инструмент противoinфекционного иммунитета, но и как универсальный эффектор гомеостаза, реа-

гирующий на многочисленные сигналы о дестабилизации внутренней среды. В связи с этим клиническое значение фагоцитарных сдвигов следует рассматривать с двух точек зрения. Во-первых, их можно использовать для суждения о резервах иммунитета, то есть в традиционном для исследований фагоцитоза плане. Во-вторых, такая информация полезна для определения глубины и динамики патологических процессов при различных заболеваниях не только инфекционной, но и неинфекционной природы. Здесь мы затронем второе направление, определив его клиническое содержание и диагностические возможности.

Немало клинических исследований связано с НСТ-тестом — реакцией бес-