

С. С. ОВАКИМЯН, К. Г. КАРАГЕЗЯН

ФОСФОЛИПИДЫ ФИБРИНОГЕНА И ИХ ИЗМЕНЕНИЯ В ПРОЦЕССЕ ФИБРИНООБРАЗОВАНИЯ

Фибриноген представляет собой глобулиновый белок плазмы, переходящий в нерастворимую форму под влиянием тромбина. По данным Тризтрама [25], в его состав входит более 20 аминокислот, некоторые гексозы и глюкозамин [23]. Благоразумова [1] из препаратов фибриногена выделила неэстерифицированный холестерин, содержание которого весьма непостоянно. В составе фибриногена обнаружены также манноза, галактоза и сиаловые кислоты, которые, по-видимому, являются частью молекулы фибриногена. Окисление углеводного компонента препятствует превращению фибриногена в фибрин, возможно, благодаря образующимся при этом продуктам окисления [15, 16].

Исходя из данных Джавадяна [5], Веселкина, Ильина и Чаплыгиной [4], фибриноген синтезируется в печени и разрушается в легких под влиянием фибринокиназы, содержащейся в больших количествах в легочной ткани. Существует мнение [20, 27], что ретикуло-гистиоцитарная система костного мозга, а возможно, и ретикуло-эндотелиальная система других органов могут продуцировать фибриноген.

О существовании видовой специфичности фибриногена свидетельствуют данные Сигерса и Шмидта [21], которые наблюдали колебания времени свертывания оксалатной плазмы разных животных.

Другие [9] показали, что кривая времени коагуляции характерна для фибриногена каждого вида млекопитающих. Исследованиями Васильева [3] установлено неодинаковое содержание фибриногена в крови у разных видов животных. Расшифровка качественного и количественного состава компонентов фибриногена в настоящее время представляет большой интерес.

Исследованиями К. Г. Карагезяна и сотр. [2, 6, 7] показано, что у собак при функциональных состояниях, разыгрывающихся в условиях внутрикаротидного, внутривенного и внутрицистернального введения различных количеств ГАМК, адреналина, и при электрокожном раздражении кровь, оттекающая от головного мозга, в отличие от артериальной, проявляет тенденцию к значительно быстрому свертыванию. К. Г. Карагезяном доказано также повышение количества фосфолипидного фосфора в крови, покидающей мозг, после введения указанных раздражителей. Исходя из данных Маркуса и др. [18], Гобби и др. [14], Териол-

та и др. [24], Роузера и др. [19], Чаргаффа и др. [10, 11], Турнера и др. [26], Сильвера и др. [22], можно сделать вывод, что фосфолипидам отводится определенная функциональная роль в активации и торможении отдельных звеньев свертывающей системы крови. Установленный нами факт относительного превалирования количества липидного фосфора в сыворотке крови над ее плазмой побудил нас изучить фибриноген на предмет присутствия в нем фосфолипидного компонента. В литературе, кроме наблюдений Благоразумовой, мы не встречали указаний относительно других липидных представителей, входящих в состав этого белка.

Методика. Исследовались свежая оксалатная плазма человека (донор) и быка. Фибриноген осаждали двукратно с помощью сернокислого аммония [1] и сушили под током холодного воздуха с помощью ацетона. Фибрин осаждали из плазмы с помощью хлорида кальция и физиологического раствора. Ацетоновый порошок подвергали восьмикратной экстракции метанол-хлороформенной смесью (1:2), экстракт промывали дистиллированной водой и нижний хлороформенный слой, содержащий фосфолипиды, выпаривали под водоструйным насосом до определенного уровня. Пробу экстракта наносили на хроматографическую бумагу Filtrak-11 с тем, чтобы количество липидного фосфора в ней не превышало 8—10 гамм. Хроматографическую бумагу предварительно пропитывали кремниевой кислотой. Пятна выявляли раствором Родамина 6-Ж, элюировали, сжигали и определяли количество фосфора по Фиске и Суббороу [13].

Результаты исследований. Качественный анализ фосфолипидов фибриногена быка показал наличие семи фосфолипидных пятен, располагающихся от линии старта в следующей очередности: неидентифицированный фосфолипид кислой природы (НФл), впервые выделенный нами; лизолецитины (ЛЛ); монофосфоинозитфосфатиды (МФиФ); сфингомиелины (СФМ); лецитины (Л); серинфосфатиды (СФл); этаноламинфосфатиды (ЭФл). В фибриногене крови человека обнаружить первые два пятна не представилось возможным.

Обнаружение указанных липидов в составе фибриногена привело к мысли проследить за картиной их распределения в препаратах фибрина той же крови. Это представляло интерес прежде всего потому, что процесс фибринообразования, безусловно, сопровождается соответствующими качественными и количественными изменениями самой молекулы фибриногена. Говоря о качественных изменениях, мы подразумеваем присоединение к фибриногену одних компонентов и, наоборот, отщепление других. Наши исследования, проведенные над фибриногеном крови быка, позволили выявить ряд закономерностей в изменении количественного состава фосфолипидов в процессе трансформации его в фибрин.

В фибриногене, полученном из плазмы быка, были обнаружены все описанные фракции фосфолипидов, а в фибрине плазмы человека обнаружены только СФМ и Л.

Сумма фосфора всех фракций фосфолипидов, входящих в состав фибриногена быка, по нашим данным, колеблется в пределах 10,58 мкг/г сухого веса. Больше всего фосфора приходится на долю Л—3,96 мкг/г сухого веса, затем СФМ—2,46; ЛЛ—1,22; ЭФл—1,0; МФиФ—0,9; СФл—0,62; НФл—0,42 мкг/г сухого веса.

Суммарное количество фосфора в фибриногене плазмы человека составляет примерно 57,09 мкг/г сухого веса. Количество фосфора в отдельных фракциях фосфолипидов фибриногена человека дано в приведенной таблице.

Иная картина наблюдается при исследовании экстракта фибрина плазмы быка, где общее содержание липидного фосфора составляло в среднем 26,6 мкг/г сухого веса, что примерно в 2,5 раза выше его уровня в составе фибриногена. В фибрине плазмы человека сумма фосфора фосфолипидных пятен равняется 118,60 мкг/г сухого веса, т. е. в 2 раза больше, чем в фибриногене. Иначе говоря, во всех изученных случаях наблюдается закономерное превалирование (в 2—2,5 раза) уровня липидного фосфора в фибрине по сравнению с фибриногеном. Исходя из результатов наших исследований, можно заключить, что в процессе фибринообразования имеет место значительное увеличение уровня липидного фосфора в составе фибрина. Детальное изучение липидных экстрактов фибрина позволило установить, что указанное увеличение идет главным образом за счет нейтральных Фл. Следовательно, образование фибрина сопровождается связыванием нейтральных Фл, удельный вес которых в общей массе Фл значительно возрастает. Таким образом, в участии Фл в каких-либо биологических процессах важное значение следует придавать их количественным соотношениям, по-видимому, играющим существенную роль в обеспечении определенной функции.

Таблица 1

Содержание индивидуальных фосфолипидов (в мкг липидного фосфора/г сухого веса) фибриногена и фибрина нормальной крови человека и быка

Фосфолипиды	Человек				Бык			
	количество фосфора в фибриногене	% от суммы	количество фосфора в фибрине	% от суммы	количество фосфора в фибриногене	% от суммы	количество фосфора в фибрине	% от суммы
Неидентифицированные Фл	—	—	—	—	0,42	4,0	0,86	3,3
Лизолецитины	—	—	—	—	1,22	11,5	5,00	19,2
Монофосфоинозит фосфатиды	6,53	11,5	—	—	0,90	8,5	0,72	2,8
Сфингомиелины	30,26	53,0	53,4	45,0	2,46	23,4	5,52	21,2
Лецитины	13,80	24,0	65,2	55,0	3,96	37,5	12,20	47,0
Серинфосфатиды	3,70	6,5	—	—	0,62	5,7	0,42	1,5
Этаноламинфосфатиды	2,80	5,0	—	—	1,00	9,4	1,34	5,0
Сумма	57,09		118,60		10,58		26,06	

Эта мысль в настоящее время выдвигается Крепсом и сотрудниками [8], утверждающими, что, кроме присутствия того или иного Фл в ЦНС, важно также наличие определенного набора Фл, независимо от филогенетической принадлежности данного животного. По всей вероятности, такой подход следует расценивать как условие, необходимое для обеспечения каких-то определенных функций, общих для представителей многих эволюционных видов. Исходя из этих суждений, мы считаем,

что они в равной мере могут найти свое претворение не только в отношении ЦНС, но и многих других органов, тканей и биологических жидкостей организма, где функциональная роль Фл очевидна. В данном конкретном случае мы считаем, что наряду со многими другими факторами существующие в молекуле фибриногена определенные количественные соотношения между кислыми и нейтральными Фл, безусловно, играют значительную роль в формировании физико-химических свойств этого белка. Когда же указанные соотношения нарушаются, в частности увеличивается удельный вес нейтральной группы Фл, из их общей суммы, по-видимому, это оставляет заметный след на изменении физико-химических свойств фибриногена, трансформирующегося в фибрин. Мы придерживаемся этого мнения на основании того, что в фибрине плазмы быка, по сравнению с фибриногеном, в 5 раз снижается уровень серинфосфатидов, а в фибрине плазмы человека полностью исчезают все кислые Фл.

В литературе существует мнение относительно антикоагулянтных свойств серинсодержащих Фл [17], исходя из которого, мы нашли интересным проследить за сдвигами кислой группы Фл в процессе фибринообразования. Результаты наших исследований показали, что препараты фибриногена и фибрина, выделенные из одной и той же порции крови, содержат совершенно различные количества серинфосфатидов. Так, например, в фибрине бычьей плазмы, по сравнению с фибриногеном, удельный вес серинсодержащих Фл снижался в 5 раз, а в фибрине плазмы человека эта группа Фл вообще отсутствовала.

Приведенные данные согласуются с результатами исследований Даусона [12], показывающими, что растворимость белковых молекул и их комплексов находится в определенной зависимости от степени комплексования их с кислыми Фл.

Исходя из этого, мы предполагаем, что в сохранении фибриногена крови в растворенном состоянии немаловажное значение имеют и другие кислые фосфолипиды, среди которых наибольшим антикоагулянтным свойством обладают серинфосфатиды.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 10.VIII 1969 г.

Ս. Ս. ՀՈՎԱԿԻՄՅԱՆ, Կ. Գ. ԳԱՐԱԳՅՈՅՅԱՆ

**ՖԻԲՐԻՆՈԳԵՆԻ ՖՈՍՖՈԼԻՊԻԴՆԵՐԸ ԵՎ ՆՐԱՆՅ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ՖԻԲՐԻՆԱԳՈՅՍԱՑՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍՈՒՄ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

*Տվյալ աշխատության մեջ նկարագրված է նոր նյութ, որի հիման վրա
Վարեյի է խոսել արյան ֆիբրինոգենի կազմում ֆոսֆոլիպիդային կոմպոնենտի
ներկայության մասին:*

Ֆիբրինոգենի կազմում հայտնաբերված են ֆոսֆոլիպիդների հետևյալ ֆրակցիաները՝ 1) ոչ-իդենտիֆիկացված ֆոսֆոլիպիդներ, 2) լիզոլեցիտիններ, 3) մոնոֆոսֆոինոզիտֆոսֆատիդներ, 4) սֆինգոմիելիններ, 5) լեցիտիններ, 6) սերինֆոսֆատիդներ, և 7) էթանոլամինֆոսֆատիդներ:

Երբ ֆիբրինոգենը վերածվում է ֆիբրինի, վերջինիս մեջ ավելանում է չեզոք ֆոսֆոլիպիդների քանակությունը, որոնք հանդիսանում են որպես արյան պրոկոագուլյանտներ: Իսկ թթու ֆոսֆոլիպիդների քանակությունը զգալի չափով պակասում է: Այդ ֆոսֆոլիպիդները հանդես են գալիս որպես արյան բնական ստաբիլիզատորներ:

Հողվածում բնարկվում է առանձին ֆոսֆոլիպիդների դերը արյան մակարոբլիուլյան և հակամակարոբլիուլյան սիստեմներում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Благоразумова М. А. Тр. Волгоградского мед. института. 8, 62, 1951.
2. Бунятян Г. X. и Карагезян К. Г. ДАН СССР, (новая серия), XCIX, 5, 831, 1954.
3. Васильев А. В. Гематология животных, М., 1948.
4. Веселкин П. Н., Ильина В. С., Чаплыгина З. А. Вопросы медицинской химии, 121, 1, 1955.
5. Джавадян Н. С. Архив патологии, 16, 22, 1954.
6. Карагезян К. Г. ДАН СССР, т. 118, 1, 142, 1958.
7. Карагезян К. Г. ДАН СССР, т. 170, 4, 985, 1966.
8. Крепс Е. М. Фосфолипиды клеточных мембран и нервной системы в развитии животного мира, «Баховские чтения» (XX), изд. Наука, Ленинград, 1967.
9. Burstein M., Guinand A. Rev. Hematol, 9, 231, 1954.
10. Chargaff E., Bendich A., Cohen S. S. J. Biol. Chem., v. 156, 161, 1944.
11. Chargaff E. J. Biol. Chem., v. 173, 253, 1948.
12. Dawson R. M., Palmer F. B. 7-th. Int. Congress of Biochem. Symp, 1—7, 1, 73, Tokyo, 1967.
13. Fiske C. H., Subbarow Y. J. Biol. Chem, v. 66, p. 375, 1925.
14. Gobbi F., Stefanini M. Fed. proc. v. 17, 438, 1958.
15. Laki K. Sci. Amer. 59, 3, 206, 1962.
16. Laki K. Biochem. Biophys. acta, 52, 1, 57, 1962.
17. Lilli E. Res. Today. v. 15, 2, 1959.
18. Marcus A. Y., Spaet T. H. J. Clin. Invest. 37, 1836, 1958.
19. Rouser G., White S. D., Schloredt D. Fed. Proc, 16, 332, 1957.
20. Schulz Y., Creveld S. Etudes inonatales, 7, 4, 133, 1958.
21. Seegers W., Smith H. Amer. J. Physiol. 142, 137, 348, 1956.
22. Silver M. Y., Turner D. Z., Tocantins Z. M. Amer. J. Physiol, v. 190, 8, 1957.
23. Szara S., Bagdy D. Acta Physiol. Hung. 4, 229, 1953.
24. Theriault D. C., Nichols T. Fed. Proc. v. 17, 322, 1958.
25. Tristram G. The proteins chemistri, biologicaı activity methods, 1, 181, 1953.
26. Turner D., Silver M., Tocantins I. Arch. Biochem. Biophys. v. 47, 2, 249, 1958.
27. Villa A. Progr. med. 14, 6, 175, 1958.