

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1989 том 35 выпуск 3

**Внимание!** Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности.

## Voprosy meditsinskoï khimii

The journal archive

*ISSN 0042-8809*

1989 volume 35 issue 3

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ 35

ВЫПУСК 3

МАЙ — ИЮНЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ  
МЕДИЦИНСКОЙ  
ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. А. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. А. ТУТЕЛЬЯН

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)

БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)

БЫЧКОВ С. М. (Москва)

КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)

КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)

ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)

ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)

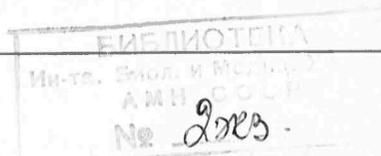
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)

ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)

ШАПОВ В. С. (Москва)

ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)

ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



NEUTROPHIL-DERIVED CATION PROTEINS AS INHIBITORS OF NON-ENZYMATIC FIBRINOLYTIC AND ANTICOAGULANT ACTIVITIES OF BLOOD PLASMA

*B. A. Kudryashov, L. A. Lyapina, V. N. Kokryakov, L. D. Azieva, V. E. Pigarevsky, G. M. Aleshina, I. P. Ashmarin*

Institute of Experimental Medicine, Academy of Medical Sciences of the USSR, Leningrad

Two cation proteins free of enzymatic activity, containing one and four peptides (CP-1

and CP-4, respectively), were studied. The cation protein consisting of four peptides proved to be the most effective inhibitor of the nonenzymatic fibrinolytic activity of heparin-containing complexes. Both these cation proteins inhibited similarly the anticoagulation activity of blood plasma. The drugs, like cation proteins, appear to be potentially important for clinical practice under conditions of excessive hemorrhage caused by elevated level in circulation of complexes containing heparin and proteins.

УДК 616.5-001.17-07:616.153.96-097-078.73

*В. М. Мирошников*

**ОСТРОФАЗОВЫЙ БЕЛОК ЗОНЫ БЕРЕМЕННОСТИ  
В ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ТЕРМИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ  
КОЖИ**

Лаборатория экспериментальной хирургии ЦНИЛ Астраханского медицинского института им. А. В. Луначарского и ожоговое отделение городской больницы скорой медицинской помощи

В последние годы заметно повысился интерес клиницистов к диагностическому значению острофазовых протеинов [2, 4, 8]. Он связан, во-первых, с тем, что обнаружение их аналогов у животных не может быть объяснено в настоящее время только «острой фазой» [17]. Во-вторых, при травмах наблюдается увеличение основного сывороточного амилоидного компонента этих белков, что говорит о генетическом контроле его эндогенных уровней у здоровых организмов [13, 14]. В-третьих, места синтеза большинства из них настолько разнообразны (лейкоциты крови, плазматические клетки лимфоидной ткани желудочно-кишечного тракта, слизистой дыхательных путей, слюнных и молочных желез и др.), что предполагают широкий диапазон возможных реакций организма [6, 11].

В группу белков «острой фазы» наряду с хорошо известными (С-реактивный протеин — С-РП, ферритин, серомукоид, фибронектин и др.) стали включаться эмбриоплацентарные и ассоциированные с беременностью антигены ( $\alpha$ -фетопротейн, раково-эмбриональный антиген, эмбриональные преальбумины, плацентарная щелочная фосфатаза и др.), обнаруживаемые во взрослом организме при различных заболеваниях. Это объясняется тем, что в основе реэкспрессии

большинства из них лежит изменение пролиферативного режима тканей, наблюдающееся как при их деструкции, воспалении, малигнизации, так и при репаративной регенерации.

В настоящее время стало очевидным, что большинство белков «острой фазы» принимает участие в иммунологических реакциях организма, сопровождающих, как правило, и восстановительные процессы [7, 16]. В частности, участие С-РП в репарации связывают с его влиянием на клеточные мембраны и с предотвращением проникновения медиаторов воспаления в клетку, что предохраняет ткани от их дальнейшего разрушения [19]. Ряд авторов считают, что продукция белков «острой фазы» снижает коллагенолитическую активность в ранах и тем самым способствует их ускоренному заживлению [18].

С этих позиций использование различных белков «острой фазы» для оценки и прогнозирования репаративной регенерации в клинической хирургии является актуальной практической задачей.

Наряду с большой информацией о содержании общеизвестных острофазовых и эмбриоплацентарных белков у больных с термическими поражениями кожи [3, 5] в литературе отсутствуют сведения о диагностической ценности при ожогах малоизученного острофазового белка зоны беременности

## Характеристика больных с термическими поражениями кожи на острофазовые сывороточные белки

Группа больных	Число больных	Степень поражения*				Площадь ожога, %			
		I	II	IIIa	IIIb—IV	до 10	10—20	20—30	30
1-я:									
абс.	41	11	18	9	3	10	24	4	3
%	35	28	43	22	7	25	57	10	8
2-я:									
абс.	75	5	18	35	7	11	30	23	11
%	65	6	24	47	23	15	40	30	15

\* Чаще наблюдается сочетание различных степеней термического поражения, поэтому в графы внесено число больных с преобладающей степенью ожога.

(связанного с беременностью  $\alpha_2$ -гликопротеина) — СБАГ. Он выявляется у 23 % доноров. Как и другие острофазовые протеины, СБАГ является иммунорегуляторным белком, кинетика которого отличается от таковой классических антигенов этой группы [1, 12]. Вместе с тем его идентификация оказалась полезной при диагностике воспалений и злокачественных процессов, а также ряда других так называемых «болезней пролиферации» [10, 15].

Очевидно, что при термических поражениях кожи, когда анализ белкового спектра сывороток крови дает ценную информацию о течении токсемии и периода реконвалесценции, определение СБАГ может иметь большое практическое значение.

### Методика

Нами исследованы сыворотки крови 116 человек (92 мужчин и 24 женщин) с термическими

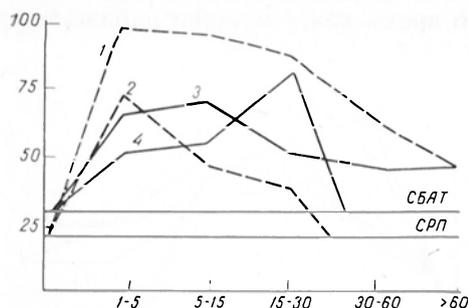


Рис. 1. Частота выявления СБАГ (сплошная линия) и С-РП (пунктирная линия) в сыворотках крови больных с ожогами кожи на различных этапах лечения в зависимости от тяжести поражения.

1,3 — 2-я группа больных; 2, 4 — 1-я группа больных. Здесь и на рис. 2 п 3 по оси абсцисс — сроки наблюдения (в днях), по оси ординат — выявляемость белка (в %). Горизонтальные линии, параллельные оси абсцисс, — частота обнаружения СБАГ и С-РП у доноров.

скими поражениями кожи на различных этапах их лечения. В возрасте до 14 лет было 17 больных (15 %), от 15 до 45 лет — 69 (59 %), старше 45 лет — 30 (26 %). Характеристика больных представлена в таблице.

Используя оценку состояния обожженных по индексу Франка (1 % площади глубокого ожога равен 3 ед., 1 % площади поверхностного ожога — 1 ед.), всех больных разделили на 2 группы. В 1-ю группу включены пациенты с легким и средней тяжести поражением (индекс Франка до 60 ед.), во 2-ю группу — больные с тяжелым и крайне тяжелым поражением (индекс Франка более 61 ед.).

Методом иммунодиффузионного титрования в агаре со стандартной тест-системой [9] в сыворотках крови больных идентифицировали С-РП и СБАГ. При моделировании тест-систем использовали коммерческую антисыворотку против С-РП, выпускаемую предприятием ЦНИИ вакцины и сывороток им. И. И. Мечникова и полученную на кафедре биохимии и в ЦНИЛ кроличью антисыворотку на СБАГ<sup>1</sup>, истощенную сухой плазмой и нативной сывороткой крови доноров. В качестве тест-антигена применили полуочищенный препарат СБАГ, выделенный препаративным электрофорезом в агаре из сывороток крови беременных женщин [7]. Для полуколичественной оценки белков чувствительность использованных тест-систем на С-РП и СБАГ приняли за 5 мкг/л.

При обработке результатов с использованием ЭВМ «Искра-21-06» по разработанной в лаборатории биометрии программе учитывали тяжесть поражения, возраст, пол пациентов и предпринимавшееся лечение.

### Результаты и обсуждение

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что частота обнаружения изученных белков у больных обеих групп в процессе наблюдения различна (рис. 1). Максимальная выявляемость С-РП у всех обожженных наблюдалась в первые 5 дней. При этом у пациентов 2-й группы с тяже-

<sup>1</sup> Автор благодарит доц. Д. М. Никулину и канд. мед. наук А. В. Коканова за предоставленную для исследования тест-систему на СБАГ.

лыми поражениями, возникшими на фоне поверхностных ожогов (I—II—IIIa степени) площадью до 60 % и глубоких (IIIб—IV степени) площадью до 30 %, высокая частота обнаружения С-РП, достигавшая 96,3 %, сохранялась до конца 2-й недели, в то время как у больных с легкими и средней тяжести поражениями кожи на фоне ожогов I—II степени площадью до 25—30 % и IIIa—IV степени площадью до 10—20 % (1-я группа) к этому периоду она снижалась до 50 %. На 2-м месяце у большинства больных 1-й группы С-РП уже не выявлялся, тогда как во 2-й группе даже после 2-месячного лечения этот белок обнаруживался у 50 % пациентов.

В отличие от С-РП процент максимального выявления СБАГ в обеих группах ниже (52,4 и 73,1), хотя процесс увеличения его уровня после травмы более продолжителен. У пациентов с ожоговой болезнью, развившейся при индексе Франка более 60 ед., на 3-м месяце реконвалесценции частота обнаружения СБАГ и С-РП выравнивалась, но оставалась выше нормы (50 %).

Существенной особенностью является тот факт, что у пострадавших, термические поражения которых не приводили к развитию ожоговой болезни, со 2-й недели лечения частота выявления СБАГ превалирует над частотой выявления С-РП вплоть до полного выздоровления и нормализации уровней сывороточных белков. Определение их концентраций, как и частоты выявления, свидетельствует о корреляциях с тяжестью поражения, полом и возрастом. В частности, установле-

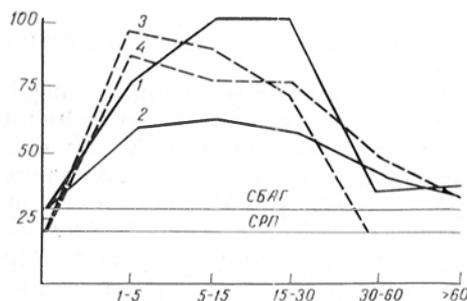


Рис. 2. Частота выявления СБАГ (сплошная линия) и С-РП (пунктирная линия) в сыворотках крови больных с ожогами на различных этапах лечения в зависимости от пола. 1, 3 — женщины; 2, 4 — мужчины.

но, что уровень С-РП в сыворотках крови мужчин с развивающейся ожоговой болезнью при индексе Франка более 61 ед. (2-я группа больных) в течение 2 нед после травмы значительно выше ( $16,06 \pm 2,74$  мг/л в первые 5 дней и  $11,27 \pm 4,0$  мг/л к концу 2-й недели), чем у пациентов 1-й группы, ожоги которых характеризовались легкой и средней тяжестью поражения при индексе Франка до 60 ед. ( $4,3 \pm 1,15$  и  $1,29 \pm 0,56$  мг/л соответственно).

Диаметрально противоположное соотношение концентрации и тяжести поражения констатировано при идентификации СБАГ. В отличие от С-РП уровень СБАГ в указанные сроки выше у больных 1-й группы ( $7,31 \pm 3,31$  и  $9,29 \pm 3,42$  мг/л) по сравнению с таковым у больных 2-й группы ( $6,39 \pm 1,49$  и  $5,68 \pm 1,13$  мг/л соответственно). Аналогичные закономерности в уровнях изученных белков выявлены и у женщин.

Наряду с этим установлено, что частота идентификации С-РП и особенно СБАГ также связана с полом (рис. 2). Так, если у мужчин процент выявления С-РП на всех этапах лечения ожогов преобладает над таковым СБАГ, то у женщин эта тенденция наблюдается лишь в 1-ю неделю. Со 2-й недели на стадии реконвалесценции частота обнаружения СБАГ у женщин значительно выше по сравнению с таковой С-РП и составляет в течение месяца 100 %. Вместе с тем процент выявления СБАГ у женщин на 2-м месяце лечения резко падает, в то время как у мужчин наблюдается его плавное снижение.

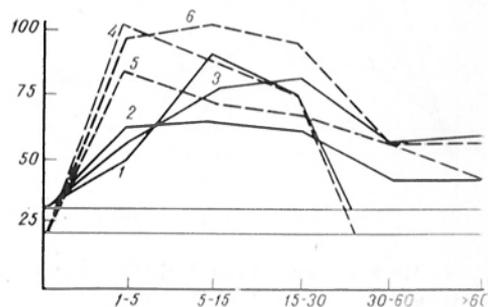


Рис. 3. Частота выявления СБАГ (сплошная линия) и С-РП (пунктирная линия) в сыворотках крови больных с ожогами на различных этапах лечения в зависимости от возраста. 1, 4 — до 14 лет; 2, 5 — от 15 до 45 лет; 3, 6 — старше 45 лет. Обозначения осей и дополнительных линий те же.

Полученные результаты показали определенное значение возраста в идентификации сывороточных белков при термических поражениях (рис. 3). По нашим данным, в 1-ю неделю после ожога наиболее часто С-РП выявляется в возрасте до 14 лет (100%), несколько реже — у людей старше 45 лет (92,9%) и еще реже — в возрасте от 15 до 45 лет (83,3%). В то же время при максимальной и минимальной частоте обнаружения С-РП процент его идентификации постепенно падает, тогда как у пациентов старше 45 лет растет до 2-й недели (100%) и лишь незначительно снижается к концу месяца (88,9%).

Иные возрастные соотношения наблюдаются в отношении СБАГ: на 1-й неделе после ожоговой травмы наиболее часто этот белок идентифицируется в возрасте 15—45 лет (63,3%), реже — у пациентов старше 45 лет (57,1%) и особенно редко — у детей до 14 лет (50%). Вместе с тем в возрасте 15—45 лет процент обнаружения СБАГ в сыворотках крови до конца 2-й недели стабилен (63,3—64), в то время как у детей и больных старше 45 лет он заметно повышается с 50 до 60 и с 57,1 до 75 соответственно. Отмеченные тенденции в возрастных особенностях идентификации СБАГ при ожогах подтверждают единичные литературные данные [1] о существовании соотношений его синтеза и периодов постнатального онтогенеза.

К 2-му месяцу репарации частота выявления обоих сывороточных белков заметно уменьшается и постепенно достигает показателей у доноров. Однако в ряде случаев оба белка определяются даже после полного клинического выздоровления и выписки из стационара при отсутствии сопутствующей патологии. По-видимому, иммунологический запуск реэкспрессии белков «острой фазы» при ожоговой болезни играет определенную роль не только в ответе на деструкцию и воспаление, но и в регенераторных реакциях организма, сохраняющихся на относительно высоком уровне длительное время в процессе реконвалесценции.

Динамическое наблюдение за больными показало, что предпринимавшееся оперативное вмешательство (аутодермопластика) приводит, с одной сто-

роны, к снижению частоты выявления С-РП, а с другой — к повышению этого показателя у СБАГ. В свою очередь это связано с очищением кожных ран, появлением гранулирующих поверхностей и эпителизацией на фоне приживления трансплантатов.

Описанные соотношения в кинетике С-РП и СБАГ у больных 1-й группы с индексом Франка до 60 ед. констатировались при оптимальном течении восстановительных реакций даже при ожоговой болезни. Наблюдения за обожженными показали, что при неблагоприятном течении периода реконвалесценции, замедлении репаративной регенерации кожных покровов, отторжении ауто трансплантатов эти соотношения могут резко меняться. В частности, у женщин во второй половине месяца после ожоговой травмы С-РП по отношению к СБАГ может оказаться преобладающим сывороточным белком. Другим прогностически неблагоприятным признаком в 1-ю неделю после травмы может быть преобладание СБАГ над С-РП. У мужчин в первой половине месяца после ожога прогностически неудовлетворительным соотношением является преобладание уровня С-РП (более 72%) и соответственно снижение уровня СБАГ (ниже 28%). Во второй половине месяца можно ожидать замедления репарации в ожоговых ранах и отторжения кожного трансплантата, если концентрация СБАГ в сыворотках крови мужчин оказывается преобладающей над концентрацией С-РП.

Таким образом, изученные сывороточные белки обнаруживаются на всем протяжении реконвалесценции, отражая не только период «острой фазы», но и восстановительные процессы. Дальнейшее изучение С-РП, СБАГ и их соотношений при термических поражениях кожи, очевидно, может иметь важное значение для клинической хирургии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Меснянкина Н. В., Татарин Ю. С. // Лаб. дело. — 1973. — № 9. — С. 568—571.
2. Мирошников В. М., Кузлер Л. В., Доронин Е. И., Ныркин А. А. // Казан. мед. журн. — 1986. — № 3. — С. 208—209.
3. Мирошников В. М., Доронин Е. И., Ницого В. Д. и др. // Хирургия. — 1986. — № 9. — С. 11—16.

4. Михайлов В. Н. // Ленинградский военный округ. Военно-мед. отдел: Военно-научная конф. врачей, 4-я: Труды. — Л., 1970. — С. 498—500.
5. Мовшев Б. Е., Аверченко В. И. // Бюл. экпер. биол. — 1982. — № 12. — С. 33—35.
6. Назаров П. Г., Софронов Б. Н. // Медиаторы иммунного ответа в эксперименте и клинике. — М., 1983. — С. 112—113.
7. Татарин Ю. С., Маслюкевич Н. В., Парфенова Л. Ф. // Акуш. и гин. — 1970. — № 9. — С. 25—27.
8. Файн М. А. // Карельская респ. науч.-практ. конф. судебно-медицинских экспертов, 7-я: Тезисы докладов. — Петрозаводск, 1973. — С. 68—69.
9. Храмова И. И., Абедев Г. И. // Бюл. экпер. биол. — 1961. — № 12. — С. 107—109.
10. Янаева А. Я., Чишьева М. А., Грачева Л. Н. и др. // Некоторые неотложные состояния в клинике внутренних болезней и их лечение. — Саратов, 1977. — С. 101—104.
11. Baum L. L., James K. K., Naviano R. R., Yewurz H. // J. exp. Med. — 1983. — Vol. 157. — P. 301—311.
12. Bohn H. // Blut. — 1973. — Bd 26. — S. 205—209.
13. Mortensen R. F., Beisel K., Zeleznik N. J., Le P. T. // J. Immunol. — 1983. — Vol. 130. — P. 885—891.
14. Pepys M. B., Baltz G. K., Davies A. J., Doenhoff M. // Nature. — 1979. — Vol. 278. — P. 259—262.
15. Stimson W. H., Tham G. N. // Lancet. — 1976. — Vol. 1. — P. 813—815.
16. Tham G. N., Szabo I. F., Szabo D. G. // Ibid. — 1974. — Vol. 2. — P. 1578—1579.
17. Udagawa Y., Armstrong S. S., Waltes G. T. et al. // Clin. exp. Immunol. — 1985. — Vol. 61. — P. 397—405.
18. Van Gool J. // Ned. Geneesk. — 1980. — Vol. 124. — P. 869—875.
19. Vigo C. // J. biol. Chem. — 1985. — Vol. 260. — P. 3418—3422.

Поступила 15.12.87

## SIGNIFICANCE OF THE ACUTE PHASE PROTEIN OCCURRING IN PREGNANCY FOR DIAGNOSTIC EVALUATION OF THE SKIN THERMIC IMPAIRMENTS

V. M. Miroshnikov

A. V. Lunacharsky Medical School, Astrakhan

Content of C-reactive protein and  $\alpha_2$ -glycoprotein occurring in pregnancy was studied in 116 patients with thermic impairments of skin during the treatment procedure. Both detection and concentration of these proteins in blood serum were shown to depend on the disease severity, sex and age of the patients. The ratio between C-reactive protein and  $\alpha_2$ -glycoprotein might be of importance in evaluation and prognosis of convalescence and reparative regeneration of the skin burns wounds.

УДК 577.152.213:577.151.6

Н. А. Гончар, О. Г. Гребенщикова, Н. В. Заславская

## МОДИФИКАЦИЯ ГИСТИДИНДЕКАРБОКСИЛАЗЫ МИКРОКОККА ТЕТРАНИТРОМЕТАНОМ

Институт медицинской энзимологии АМН СССР, Москва

Гистамин, биосинтез которого катализирует фермент гистидиндекарбоксилаза (ГДК), оказывает многообразное действие на метаболизм и физиологические функции организма в норме и при патологии. Изучение свойств модифицированной ГДК позволяет не только глубже понять механизм действия фермента, но и открывает возможность для направленного воздействия на фермент при патологических состояниях. Для модификации ГДК мы использовали тетранитрометан (ТНМ). Этот реагент, широко применяемый в белковой химии, в мягких условиях избирательно нитрует остатки тирозина [15, 21] и окисляет сульфгидрильные группы в белках [14].

### Методика

Кристаллическую и гомогенную ГДК из *Micrococcus* sp. n. получали, как описано ранее [6, 8]. Концентрацию фермента определяли по

оптической плотности  $A_{278}^{1\%} = 16$  [3]. Декарбоксилазную активность находили манометрическим методом в аппарате Варбурга (37°C, 0,07 М фосфатный буфер, pH 5,6). Ошибка определения декарбоксилазной активности была  $\pm 10\%$ . Активность фермента (в ед.) выражали в микролитрах  $\text{CO}_2$  за первые 10 мин ферментативной реакции. Удельная активность гомогенной ГДК равна 6000 ед/мг.

Нитрование ГДК тетранитрометаном (ТНМ) проводили по методу [21]. Использовали 5% (по объему) раствор ТНМ («Serva», ФРГ) в абсолютном этаноле. К ГДК в 1/15 М фосфатном буфере (pH 5,6—8,0) добавляли свежеприготовленный раствор ТНМ, смесь инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Концентрация ТНМ была  $0,6 \cdot 10^{-3}$ — $6,0 \cdot 10^{-3}$  М. Концентрация ГДК  $1,5 \cdot 10^{-5}$ — $3,5 \cdot 10^{-5}$  М. Концентрация этанола в инкубационной смеси была до 2% и не влияла на декарбоксилазную активность. Реакцию обычно останавливали, отделяя избыток реагента гель-фильтрацией на колонке с сефадексом G-25 (1,5×30 см) уравновешенную 1/15 М фосфатным буфером pH 5,6—8,2. Фермент, обработанный сходно, но без ТНМ, брали для контроля. Образцы