

К. Г. КАРАГЕЗЯН, С. С. ОВАКИМЯН, А. В. ТЕВОСЯНЦ

РОЛЬ ФОСФОЛИПИДОВ В АКТИВИРОВАНИИ И ТОРМОЖЕНИИ ПРОЦЕССА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

(Представлено академиком С. Е. Севериным 21 I 1971)

Внутрисосудистое фибринообразование характеризуется глубокими расстройствами в биохимии свертывающей системы крови (¹) с одновременными нарушениями в количественных соотношениях между нейтральными и кислыми фосфолипидами (ФЛ), имеющими немаловажное значение в норме и патологии свертывания крови (²⁻⁴). Присутствие ФЛ в составе фибриногена (^{5, 6}) свидетельствует об их участии в тромбообразовательной функции крови. Трансформация фибриногена в фибрин сопровождается уменьшением содержания кислых ФЛ и возрастанием уровня нейтральных ФЛ. Это вносит значительные изменения в количественные соотношения между указанными группами ФЛ и существенно меняет нормальную картину процесса свертывания крови.

В настоящем сообщении отражены результаты исследований по изучению действия этаноламинфосфатида (ЭФЛ), серинфосфатида (СФЛ), лецитина (Л) и сфингомиелина (СФМ), обладающих про- и антикоагулянтными эффектами (⁷⁻⁹), а также по влиянию фосфоэтаноламина (ФЭТ), фосфосерина (ФС), фосфохолина (ФХ), свободного этаноламина и серина на протромбиновое время, тромбопластическую активность, время свертывания крови, количество фибриногена и фибринолитическую активность.

Протромбиновое время определяли по Квику в модификации Кудряшова (¹⁰), тромбопластическую активность — по Кудряшову, время свертывания крови — по Ли-Уайту, фибриноген и фибринолитическую активность — по Бидвель (¹¹).

В исследованиях были использованы химически чистые препараты ФЛ и указанных азотистых оснований (производство «Sigma» Chemical Company, США).

Навески ФЛ растворяли в малых объемах хлороформа, из которых готовили разведения, соответствовавшие 0,005; 0,01; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 и 1,0 мг испытуемого вещества. К испытуемому раствору ФЛ прибавляли необходимое количество воды, получали стойкую эмульсию, которую в соответствующих объемах разливали по опытным пробиркам. Для полного удаления следов хлороформа и получения сухого налета ФЛ на дне пробирки последние первоначально помещали в водную баню при 37°, а затем в вакуумный эксикатор в течение нескольких часов. В пробирки добавляли нужные количества растворов хлористого кальция и тромбопластина, их содержимое тщательно встряхивали до получения гомогенной смеси, рН которой стабилизировали в пределах 7,1—7,4. Перед анализом пробирки вновь помещали в водяную баню при 37°. Растворы ФЭТ, ФС, ФХ, этаноламина и серина готовили на 0,85% физиологическом растворе.

Как видно из табл. 1, при введении в исследуемую среду 0,005 мг ЭФЛ отмечалось лишь незначительное сокращение протромбинового времени. ЭФЛ в концентрациях 0,01; 0,1 и 0,2 мг уменьшал величину протромбинового времени от исходных 25 сек. до 20 сек., а в дозе 0,5; 0,7; 0,9 и 1,0 мг вызывал его постепенное удлинение до исходного уровня.

Незначительные количества ФЭТ: 0,001; 0,01 и 0,03 мг вызывали заметное сокращение протромбинового времени от 20 сек. до 16 сек. Постепенное увеличение дозы ФЭТ до 0,2 мг сопровождалось закономерным удлинением протромбинового времени, достигавшим 29 сек.

Показано (¹²⁻¹⁴) активизирующее действие свободного этаноламина на протромбиновое время у собак *in vivo*. Согласно результатам наших исследований, 0,25—5,0 мг свободного этаноламина *in vitro* приводили к чувствительному сокращению протромбинового времени — от исходных 24,5 сек.

Таблица 1

Действие этаноламинфосфатида, фосфоэтанолamina и свободного этаноламина на протромбиновое время у собак

Дозы этаноламинфосфатида, мг	Протромбиновое время, сек.	Дозы фосфоэтанолamina, мг	Протромбиновое время, сек.	Дозы свободного этаноламина, мг	Протромбиновое время, сек.
Контроль	23,0	—	20,0	—	24,5
0,005	23,5	0,001	16,0	0,25	22,0
0,01	20,0	0,01	16,0	1,0	21,0
0,1	20,0	0,03	15,0	5,0	21,0
0,2	20,0	0,06	17,0	15,0	15,0
0,5	21,5	0,08	18,0	25,0	15,5
0,7	24,0	0,1	20,0	35,0	15,0
0,9	24,5	0,15	25,0	45,0	15,0
1,0	25,5	0,2	29,0	50,0	15,0

Таблица 2

Действие серинфосфатида, фосфосерина и свободного серина на протромбиновое время у собак

Дозы серинфосфатида, мг	Протромбиновое время, сек.	Дозы фосфосерина, мг	Протромбиновое время, сек.	Дозы свободного серина, мг	Протромбиновое время, сек.
Контроль	25,0	—	24,0	—	20,0
0,005	26,0	0,0015	23,0	0,25	23,0
0,01	25,5	0,03	21,0	1,0	24,0
0,1	26,5	0,06	23,0	5,0	24,0
0,3	26,0	0,1	24,0	15,0	26,0
0,5	26,0	0,15	26,0	25,0	26,0
0,7	28,0	0,2	26,5	35,0	26,0
0,9	29,0	0,27	27,0	45,0	28,0
1,0	30,0	0,3	29,0	50,0	28,0

до 21 сек. Под действием 15,0 мг препарата наблюдалось его предельное сокращение до 15 сек., что и не менялось, несмотря на дальнейшее последовательное увеличение концентрации этаноламина.

Как вытекает из табл. 2, введение в опытную пробирку 0,005—0,5 мг СФЛ не сопровождалось заметными отклонениями протромбинового времени от нормы (25—26 сек.). 0,7; 0,9 и 1,0 мг СФЛ вызывали проявление антикоагулянтного эффекта — возрастание величины протромбинового времени до 28, 29 и 30 сек. соответственно.

Последующие исследования показали, что добавление к среде 0,0015 мг ФС вело к слегка заметному сокращению протромбинового времени (24—23 сек.), которое становилось более отчетливым при увеличении дозы ФС до 0,03 мг. 0,1—0,3 мг препарата вызывали проявление чувствительного антикоагулянтного эффекта, выражавшегося в удлинении протромбинового времени до 29 сек. Использование свободного серина в известных,

последовательно возрастающих концентрациях сопровождалось закономерным наблюдавшимся удлинением протромбинового времени.

Как видно из табл. 3, лецитин в концентрации 0,005—0,5 мг вызывал заметное сокращение протромбинового времени (от 25 до 20 сек.). Дальнейшее увеличение его дозы до 0,7; 0,9 и 1,0 мг приводило к постепенному удлинению протромбинового времени, достигавшему первоначального

Т а б л и ц а 3

Действие лецитина, фосфохолина и сфингомиелина на протромбиновое время у собак

Дозы лецитина, мг	Протромбиновое время, сек.	Дозы фосфохолина, мг	Протромбиновое время, сек.	Дозы сфингомиелина, мг	Протромбиновое время, сек.
Контроль	25,0	—	24,0	—	25,0
0,005	24,5	0,0016	22,0	0,005	24,5
0,01	24,5	0,016	20,0	0,01	23,5
0,1	22,0	0,032	20,5	0,1	23,0
0,3	21,0	0,064	19,5	0,3	23,0
0,5	20,0	0,096	18,0	0,5	21,5
0,7	22,0	0,16	17,0	0,7	22,5
0,9	24,0	0,24	17,0	0,9	25,5
1,0	26,0	0,32	16,0	1,0	26,5

уровня и даже больших величин. В отличие от Л, ФХ во всех использованных концентрациях вызывал закономерное постепенно нарастающее сокращение протромбинового времени (от 24 до 16 сек.). Примечательно, что СФМ, использованный в тех же дозах, что и ЭФЛ и Л, вызывал аналогичную их действию динамику изменения протромбинового времени.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о существовании тесной взаимосвязи между изменениями в величине протромбинового времени и концентрацией в среде изученных ФЛ и азотистых оснований, входящих в их строение (опыты *in vitro*). Примечательно, что динамика протромбинового времени под действием ЭФЛ, Л и СФМ отличается своей однотипностью и характеризуется его первоначально чувствительным сокращением (малые дозы), сменяющимся последующим развитием антикоагулянтного эффекта (сравнительно высокие дозы). Эта закономерность, повторявшаяся в строгой зависимости от примененной дозы указанных ФЛ, не распространялась на эффекты СФЛ, вызывавшего с начала до конца последовательное усиление противосвертывающей реакции в строгом соответствии с повышением его количества. Заслуживает внимания тот факт, что ФХ и ФС, примененные примерно в одинаковых концентрациях, оказывали на протромбиновое время диаметрально противоположное действие. В отличие от них, ФЭТ в малых концентрациях чувствительно повышал протромбиновую активность крови, уподобляясь действию ФХ, а в сравнительно высоких количествах приводил к развитию противоположного эффекта, как это отмечалось в отношении ФС. Свободный этаноламин и серин оказывали на протромбиновое время первый активирующее, второй тормозящее действие. Выраженность наблюдаемого эффекта находилась в большой зависимости от применения дозы препарата.

Наши данные позволяют предполагать, что специфичность действия изученных ФЛ на протромбиновое время во многом зависит от природы азотистого основания, входящего в их строение.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. С. Овакимян, Кандидатская диссертация, 1970. ² M. J. Silver, D. L. Turner, L. M. Tosantins, *Am. J. Physiol.*, **190**, 8 (1957). ³ E. Lilly, *Res. Today*, **15**, 2 (1959). ⁴ К. Г. Карагезян, С. С. Овакимян, Г. Л. Мирза-Авакян, *Вопр. мед. химии*, **16**, 503 (1970). ⁵ К. Г. Карагезян, *Биол. журн. Армении*, **21**, 2, 16 (1968). ⁶ С. С. Овакимян, К. Г. Карагезян, *Биол. журн. Армении*, **23**, 2, 18 (1970). ⁷ E. Chargaff, A. Bendich, S. S. Cohen, *Biol. Chem.*, **166**, 161 (1944). ⁸ M. J. Silver, D. L. Turner, L. M. Tosantins, *Arch. Biochem. and Biophys.*, **77**, 249 (1958). ⁹ E. Chargaff, A. Bendich, *Science*, **99**, 147 (1944). ¹⁰ Б. Е. Предтеченский, *Лабораторные методы исследования*, 1950, стр. 113. ¹¹ Г. В. Андреевко, *Пробл. гематол. и перелив. крови*, **9**, 31 (1962). ¹² Г. В. Камалян, А. А. Акопян, *Тр. Ереванск. мед. инст.*, **23**, 27 (1959). ¹³ Г. В. Камалян, А. А. Акопян, *Докл. АН АрмССР*, **32**, 2, 95 (1965). ¹⁴ Г. В. Камалян, А. А. Акопян, *Матер. Всесоюзн. конфер. по пробл. биохимии сельхоз. животных*, М., 1961, стр. 48.