

4. Левицкий А. П., Барабаш Р. Д., Коновець В. М. Нуклеазы слюны кролів.— Укр. біохім. журнал, 1974, 46, № 3, с. 372—375.
5. Монцевичюте-Эрингене Е. В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе.— Патол. физиол. и экспер. терапия, 1964, 4, с. 71—78.
6. Appers D. N., Isseldacher K. I. Protein synthesis by rat intestinal mucosa. The role of ribonuclease.— J. Biol. Chem., 1967, 242, N 25, p. 56—62.
7. Шатрен Н. Биосинтез белков.— М.: ИЛ, 1965.— 324 с.
8. Filipowicz F. J. Measurement of electrical potential across intact and isolated pouch epithelium of the hamster.— J. Dent. Res., 1963, 42, N 4, p. 919.
9. Krons F. W., Mestecky J., Irupe H. E. Immune response to elastin collagenase in gingiva and other tissues of rabbit.— J. Dent. Res., 1972, 5, N 1, p. 293—301.
10. Ranney R. R., Lander H. A. Allergic periodontal disease in sensitized squirrel monkeys.— J. Periodontol., 1970, 41, p. 12—21.

Одесский институт стоматологии

Поступила в редакцию
5.IV 1978 г.

УДК 616.37—002:612.015.1—084

Н. С. Мищенко, Н. Ф. Погорелая

ИССЛЕДОВАНИЕ КИНИНОБРАЗУЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ У СОБАК

Протеолитические ферменты играют важную роль в развитии острых панкреатитов. Полагают, что в основе патогенеза острых панкреатитов лежит преждевременная активация проферментов в ткани поджелудочной железы и поступление активных протеиназ в кровяное русло. Активированные ферменты могут непосредственно действовать на тканевые структуры, либо косвенно — путем образования вазоактивных полипептидов — кининов, которые повышают проницаемость сосудов, нарушают процессы микроциркуляции, вызывают болевой синдром [6].

Образование кининов в организме происходит под влиянием специфических протеиназ — калликреинов, основная часть которых находится в поджелудочной железе и крови в виде неактивных предшественников — прекалликреинов. Выяснение механизмов активации прекалликреинов, в особенности плазменных, в условиях острого панкреатита является мало выясненным процессом и требует дальнейшего изучения.

Методика исследований

У подопытных собак весом 7—12 кг в условиях хронического эксперимента вызывали острый панкреатит с помощью лигирования основных венозных сосудов поджелудочной железы и внутриорганный введения желчи (от 1 до 2 мл в зависимости от веса тела животного и величины поджелудочной железы). Операцию производили в стерильных условиях под гексеналовым наркозом (50 мг/кг 10% раствора внутрибрюшинно) с предварительной премедикацией морфием (0,5 мг/кг 0,1% раствора подкожно). Животным вскрывали брюшную полость, извлекали двенадцатиперстную кишку вместе с поджелудочной железой. Выведенный участок кишки с поджелудочной железой тщательно ограничивали тампонами и салфетками от остальных органов брюшной полости. Через несколько минут после введения желчи, когда железа принимала яркую окраску, органы вправляли в брюшную полость и зашивали ее послойно. Вскрытие животных показало, что, как правило, развивался панкреатит средней тяжести. Наблюдалась атрофия поджелудочной железы с мелкими участками некроза ткани. Реже отмечалось обширное кровоизлияние с явлениями некроза. Кровь (4,5 мл) брали из вены передней конечности. В плазме крови исследовали активность прекалликреин-калликреиновой системы по [2], что позволяет определить в одной пробе содержание контактного калликреина и его ингибиторов, а также исходную протаминрасщепляющую активность неактивированной плазмы. Активность названных компонентов выражали в микромолях аргинина, отщепленного от протамина калликреиноподобными ферментами в 100 мл плазмы за 1 мин. (мкмоль арг. × 100 мл/мин).

Результаты исследований и их обсуждение

Известно, что фактор Хагемана (ФХ, XII фактор свертывания крови) является белком — ферментом, активирующим калликреин плазмы, который способен образовывать кинины [9]. ФХ находится в плазме крови человека и животных в неактивной форме. Активация ФХ включает контактную и энзиматическую фазы. Полагают, что в основе контактной активации лежит электростатическое взаимодействие между молекулой белка ФХ и поверхностно активными веществами со специфическими свойствами [5, 8, 10]. В полной мере активация ФХ происходит ферментативным путем посредством калликреина, образующегося во время контактной активации ФХ. Калликреин по типу

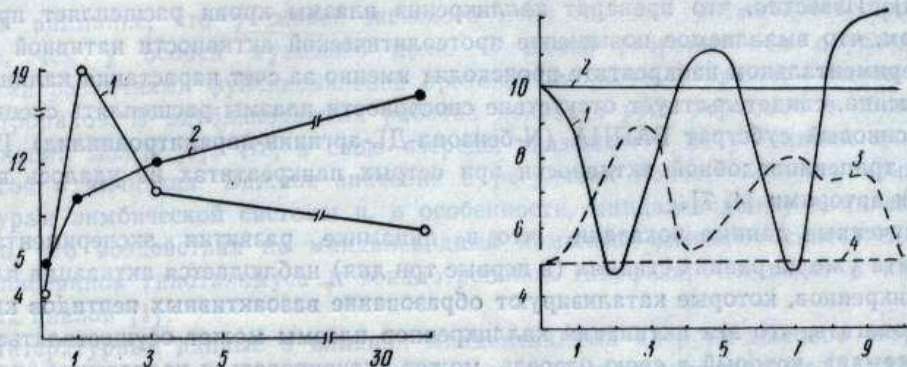


Рис. 1. Гидролиз протамина плазмой, активированной каолином во времени. По вертикали — количество аргинина, $\mu\text{моль}$. По горизонтали — время активации прекалликреина плазмы, мин. 1 — плазма крови человека, 2 — плазма крови собаки.

Рис. 2. Динамика содержания «контактного» прекалликреина и исходной протеолитической активности плазмы крови собаки при остром панкреатите.

По вертикали — количество аргинина, $\mu\text{моль}$. По горизонтали — дни заболевания. Содержание «контактного» прекалликреина: 1 — в динамике острого панкреатита, 2 — контроль (до операции). Исходная протеолитическая активность: 3 — в динамике острого панкреатита, 4 — контроль (до операции).

обратной связи расщепляет молекулу ФХ с образованием активного фрагмента, который с большой скоростью активирует кининовую, тромбиновую и плазминовую системы.

Активность ФХ, его фрагментов и калликреина находится под контролем ингибиторов плазмы [3, 11]. Поскольку активность калликреинов проявляется в крови, содержащей мощные системы белковых ингибиторов, выяснение взаимосвязи системы калликреины и их ингибиторы представляется существенным для понимания механизмов высвобождения вазоактивных полипептидов кининов при остром панкреатите.

В I серии опытов мы исследовали активацию каолином прекалликреина плазмы крови здоровых собак во времени (рис. 1, 2). Для сравнения приведена аналогичная кривая хода активации плазменного прекалликреина человека (рис. 1, 1). Из кривых видно, что прекалликреин плазмы крови собаки, в отличие от человеческого, активируется более медленно, а максимальный уровень активации отмечен через 30 мин (для человеческого — 1 мин). При контакте плазмы с каолином до 30 мин не отмечено падения протаминрасщепляющей активности калликреина, как это установлено для плазмы крови человека [2].

Выраженные отличия в активации прекалликреина плазмы собаки по сравнению с плазмой человека не объяснены [12]. Можно полагать, что замедление скорости активации прекалликреинов связано со структурными различиями в молекуле ФХ или с его меньшим количественным содержанием по сравнению с плазмой человека. Активированный фермент в собачьей плазме оказался также практически не чувствительным к плазменным ингибиторам, в отличие от активированного прекалликреина плазмы человека [2].

Обнаружив активацию плазменных прекалликреинов собаки каолином, мы приступили к основной серии опытов, в которых изучали содержание прекалликреина в динамике острого панкреатита в течение первых десяти дней заболевания. Содержание пре-

калликреина оценивали по уровню протаминрасщепляющей активности, регистрируемой на 30 мин контактной активации. Наряду с этим определяли исходную протеолитическую активность плазмы (рис. 2). Полученные данные сравнивали с соответствующими показателями у собак до операции. Как видно из представленных результатов, при экспериментальном панкреатите количественный показатель прекалликреина претерпевает фазовые изменения, состоящие в снижении его концентрации в первые 3 дня и последующие 6—8 дни заболевания (рис. 2, 1), что, по-видимому, связано со спонтанным превращением профермента в активную форму, обусловленным его эндогенной активацией. С таким предположением согласуются данные одновременного (синхронного) повышения (рис. 2, 3) протеолитической активности неактивируемой плазмы (субстрат протамин). Известно, что препарат калликреина плазмы крови расщепляет протамин [1]. О том, что выявляемое повышение протеолитической активности нативной плазмы при экспериментальном панкреатите происходит именно за счет нарастания калликреина, а не трипсина, свидетельствует отсутствие способности плазмы расщеплять специфический трипсиновый субстрат БАПНА (N-бензоил-DL-аргинин-паранитроанилид) [9]. Повышения трипсиноподобной активности при острых панкреатитах не удалось выявить и другими авторами [4, 7].

Полученные данные показали, что в динамике развития экспериментального панкреатита уже на ранних стадиях (в первые три дня) наблюдается активация плазменных калликреинов, которые катализируют образование вазоактивных пептидов кининов. Можно полагать, что эта активация калликреинов плазмы может осуществляться фактором Хагемана, который в свою очередь, может активироваться коллагеном эндотелия поврежденных сосудов, а также ферментативными механизмами.

Существенная роль кининовой системы в развитии панкреатитов и их осложнений подчеркивает необходимость дальнейшего изучения данного вопроса.

Литература

1. Веремеенко К. Н. Кининовая система.— Киев: Здоров'я, 1977.— 183 с.
2. Веремієнко К. М., Волохонська Л. І., Кизим О. Й., Мегедь Н. Ф. Визначення калікреїну та інгібіторів калікреїну в плазмі крові.— Укр. біохім. журн., 1974, 46, № 2, с. 246—251.
3. Комиссарова Н. В., Гомазков О. А. Новые данные о значении калликреин-кининовой системы в регуляции гемостаза.— Патол. физиол., 1977, в. 3, с. 89.
4. Лапчинский И. Д. О возможности определения трипсина в сыворотке крови при панкреатите.— Врач. дело, 1973, № 9, с. 96—99.
5. Мегедь Н. Ф., Веремієнко К. М., Тюртих В. В., Павлов В. В. Контактна активація прекалікреїну плазми крові вискодисперсними органічними кремнеземами.— Укр. біохім. журн., 1976, 48, № 3, с. 370—374.
6. Савельев В. С., Усватова И. Я., Огнев Ю. В., Митронов И. А. Изменения кининовой системы крови при остром панкреатите.— Вестн. хир., 1973, № 8, с. 46—51.
7. Adham N. F., Dyce B., Haverback B. J. Trypsin-binding α_2 -macroglobulin in patients with acute pancreatitis.— Gastroenterology, 1972, 61, N 3, p. 365—372.
8. Colman R. W. Formation of human plasma kinin.— N. Engl. J. Med., 1974, 291, N 5, p. 509—525.
9. Colman R. W., Mattler L., Sherry S. Studies on the prekallikrein-kallikrein enzyme system of human plasma.— J. Clin. Invest., 1969, 48, N 1, p. 23—32.
10. Eisen V. Enzymic aspects of plasma kinin formation.— Proc. Roy. Soc. Ser. B. 1969, 173, N 1032, p. 351—359.
11. Griffin J. H., Cochran C. G. Mechanisms for the involvement of high molecular weight kininogen in surface-dependent reactions of Hageman factor.— Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1976, 73, N 8, p. 2554—2558.
12. Nakahara Masao. Activation of dog plasma kininogenase with glass.— Biochem. Pharmac., 1974, 23, N 1, p. 3009—3015.

Кафедра патологической физиологии
Киевского медицинского института;
Лаборатория биохимии
Киевского института отоларингологии

Поступила в редакцию
19.V 1978 г.