

Т. С. ПАСХИНА

О ДЕЙСТВИИ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЭКСУДАТОВ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ КОЖНЫХ КАПИЛЛЯРОВ

(Представлено академиком А. И. Опариным 13 V 1953)

В одной из наших предыдущих работ (1) была показана ошибочность представлений В. Менкина (3), поддержанных рядом зарубежных авторов (4-6), о наличии в воспалительных экссудатах собак особых, высокоактивных пептидов (так называемого «лейкстаксина») (3), обуславливающих повышение проницаемости капилляров и эмиграцию лейкоцитов в очагах воспаления. Эти начальные проявления воспалительной реакции, с которыми связано образование экссудата, не могут также быть отнесены за счет аденозинтрифосфата, или других производных аденина, поскольку, как показано нами (2), эти вещества, повышающие капиллярную проницаемость лишь при очень высоких концентрациях, в экссудатах практически отсутствуют.

Как уже сообщалось, свойство экссудатов вызывать при введении в кожу кролика повышение проницаемости капилляров (и эмиграцию лейкоцитов) связано с одной из белковых (глобулиновых) фракций экссудатов. В настоящей работе приводятся данные, характеризующие природу этих белков и их биологическую активность. Мы приводим также результаты дальнейших исследований, показавших, что повышение проницаемости капилляров, вызываемое воспалительными экссудатами и выделенными из них белками, при общепринятом способе тестирования (введение в кожу кролика), обусловлено в первую очередь чужеродностью вводимых белков. При испытании на коже животных собственного вида даже неразведенные воспалительные экссудаты оказались лишенными способности повышать проницаемость капилляров.

В своих новейших работах Менкин (9) описывает под названием «эксудин» фактор проницаемости капилляров, якобы встречающийся только в кислых экссудатах. Свойства этого фактора, которому автор необоснованно приписывает «дипептидную» природу, не оставляют сомнения в том, что Менкин имел в этом случае дело с действием на проницаемость капилляров глобулинов экссудата, описанных в данном сообщении. Нам не удалось отметить какого-либо различия между активными глобулиновыми фракциями из нейтральных и кислых экссудатов.

Экспериментальная часть

Исследуемым материалом служили нейтральные, серофибринозные экссудаты из плевральной полости собак и кроликов, вызванные инъекцией скипидара, и послеоперационные асептические экссудаты из плевры больных (1). Действие исследуемых материалов на проницаемость капилляров испытывалось ранее описанным методом (1, 2) в сравнении с действием высокоактивного препарата глобулинов из экссудата человека и выражалось числом единиц проницаемости капилляров (епк) в 1 мг. Эмиграция лейкоцитов на месте инъекции препаратов исследовалась гистологически.

При фракционировании воспалительных экссудатов человека и собаки

различными способами мы убедились, что в суммарных белках эксудата, осажденных в условиях, исключающих денатурацию (высаливание NH_4 -сульфатом, осаждение спиртом при температуре ниже 0°), содержится столько же (или больше) единиц активности по повышению капиллярной проницаемости в коже кролика, как в исходном цельном эксудате. При денатурации белков (нагреванием, кислотами) активность исчезает или резко снижается. Безбелковые фильтры эксудатов, полученные путем кипячения, ультрафильтрации, осаждения трихлоруксусной кислотой или спиртом, сохраняют лишь незначительную часть активности эксудата (1—3%) — тем меньшую, чем полнее удаляются белки.

Для выяснения природы активных белков эксудаты подвергались фракционированию путем ступенчатого высаливания сернокислым аммонием. Собирали фракции, выпадающие в зонах насыщения от 0 до 0,33

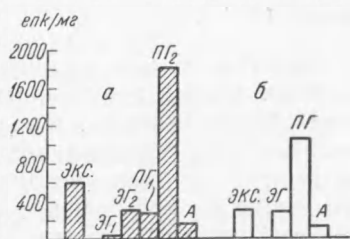


Рис. 1

(фракция «эвглобулинов», или ЭГ), от 0,33 до 0,50 (фракция «псевдоглобулинов», или ПГ) и от 0,50 до 0,70 (фракция «альбуминов», или А). Каждая фракция промывалась на центрифуге соответствующим раствором NH_4 -сульфата, переосаждалась в том же интервале насыщения и подвергалась диализу. Фракции ЭГ и ПГ при этом подразделялись на подфракции ЭГ₁ и ПГ₁, не растворимые в воде, но лучше растворимые в 0,9% NaCl, состоящие преимущественно из

истинных эвглобулинов, и на водорастворимые ЭГ₂ и ПГ₂. Диализованные растворы всех фракций высушивались в вакууме в замороженном состоянии; они представляли легкие белые порошки, содержащие 12,5—13,6% N; 0,01—0,06% P и 0,7—4,5% золы.

В результате потерь при диализе и переосаждениях суммарное количество белков во всех фракциях составляло 50—60% от общего белка эксудатов.

Валовые активности по проницаемости (1, 2) белковых фракций из эксудатов человека (а) и собаки (б) (на 1 мл) показаны на рис. 1, из которого видно, что наибольшей активностью, значительно превышающей таковую цельного эксудата, обладает фракция ПГ₂, особенно полученная из эксудатов от человека. Ее удельная активность (200—500 епк/мг) в 100 раз выше, чем у препаратов так называемого «лейкотаксина». Действие на проницаемость остальных белковых фракций (ЭГ₂, ПГ₁ и особенно ЭГ₁ и А) значительно слабее. Расчет валовой активности (число епк/мг × общий выход в мг) показывает, что общее число епк в выделенных белках (и даже в одной фракции ПГ) в несколько раз (2—4 раза) больше, чем во всем сухом остатке соответствующего объема цельного эксудата; это свидетельствует о наличии в исходных эксудатах факторов, тормозящих действие активных белков на проницаемость капилляров.

Электрофоретический анализ белковых препаратов из эксудатов, проведенный В. Д. Успенской, показал, что фракция ЭГ₂ содержит около 70% γ -глобулинов и 30% β -глобулинов; ПГ₂ содержит почти равные количества α -, β - и γ -глобулинов; во фракции А наряду с альбуминами присутствует значительное количество α -глобулинов. Опыты по препаративному разделению белков цельного эксудата в аппарате для электрофореза (при рН 8,6) показали, что белки с максимальным действием на проницаемость располагаются по электрофоретической подвижности в зоне между пиками β_1 - и α_2 -глобулинов. По мере удаления от этой зоны активности электрофоретических фракций снижается; белки, соответствующие пикам γ -глобулинов и альбумина, не повышают проницаемости капилляров. Лишенными действия на проницаемость оказались также препараты γ -глобулина и фибриногена кровяной плазмы человека и бычьего кристалли-

ческого альбумина. Результаты фракционирования путем электрофореза и высаливания свидетельствуют о том, что активные белки эксудата принадлежат к группе β - или α -глобулинов, но ввиду недостаточной однородности белковых фракций, полученных этими методами (а также при фракционировании спиртом по Кону (10)), в настоящее время нет возможности решить, свойственно ли действие на проницаемость одному индивидуальному белку или оно присуще в той или иной мере целой группе сходных глобулинов.

Нами установлено, что протеолитические ферменты (трипсин, макропитаза, плазмин) в очень разведенных растворах повышают проницаемость кожных капилляров кролика, аналогично глобулинам эксудатов. В более высоких концентрациях эти ферменты вызывают некроз и кровоизлияния. Активные глобулины (ПГ₂) даже в 1,5% растворе не обладают кожно-некротическим действием и не содержат протеолитических ферментов или зимогенов (плазмина, плазминогена). Действие на проницаемость фракций ЭГ и ПГ не снижается при удалении липоидных компонентов путем экстракции *n*-бутиловым спиртом (8) и, следовательно, не связано с присутствующими в этих фракциях липопротеидными комплексами. Активность препаратов ПГ₂ снижается на 50% при 5-минутном нагревании до 50° и на 90% при 70°.

В противоположность указаниям Менкина (3), мы нашли, что сыворотка и плазма нормальной крови человека и собаки интенсивно повышают проницаемость кожных капилляров кролика, причем действие их связано с белками глобулиновых фракций ЭГ и ПГ, удельная активность которых близка к активности одноименных фракций из воспалительных эксудатов. Кроме того, оказалось, что ни сыворотка кролика, ни эксудаты кролика, полученные после введения в плевральную полость скипидара или уксусной кислоты, даже в неразведенном виде, не повышают проницаемости капилляров при испытании на кролике.

Эти результаты были несовместимы с представлением о содержании в эксудатах веществ, играющих специфическую роль в повышении капиллярной проницаемости в очаге воспаления в естественных условиях. Они побудили нас поставить перекрестные опыты с испытанием действия гомологических и гетерологических сывороток, эксудатов и выделенных из них глобулинов на кожные капилляры животных различных видов (см. табл. 1). При этом оказалось, что введение в кожу животных не только эксудатов, но и сыворотки чужого вида всегда вызывает повышение проницаемости, причем чувствительность кожных сосудов к чужеродным белкам у разных животных различна, а именно: наибольшая у кролика, наименьшая у собаки. Введение же цельного эксудата или сыворотки собственного вида не вызывает повышения проницаемости в коже кролика и собаки. Было бы, однако, преждевременным сделать вывод, что эксудаты вообще не содержат веществ, способных повышать проницаемость капилляров у животных собственного вида. Оказалось, что, в отличие от цельных гомологических эксудатов, выделенные из них глобулины (ПГ₂) повышают про-

Таблица 1

Действие гомо- и гетерологических сывороток, эксудатов и выделенных из них глобулинов на проницаемость капилляров животных различных видов

Донор	Фракция	Уд. активность (епк/мг), реципиент		
		собака	кролик	крыса
Собака	Сыворотка	0	10	—
	Эксудат $\alpha + \beta$ -глобулины эксудата	0	5	0,5
Кролик	Сыворотка	2	50	—
	Эксудат $\alpha + \beta$ -глобулины эксудата	5	0	0,9
Человек	Сыворотка	2	25	6,0
	Эксудат $\alpha + \beta$ -глобулины эксудата	2	10	—
		3	200	50

ницаемость в коже кролика или собаки, хотя их удельная активность значительно ниже активности чужеродных глобулинов. В цельном экссудате активность этих белков остается скрытой, замаскированной, в силу присутствия тормозящих факторов. Нами было показано далее, что действие не только собственных, но и чужеродных активных глобулинов нейтрализуется, маскируется воспалительным экссудатом собственного вида (например, 1 мл цельного кроличьего экссудата маскирует до 320 единиц активности глобулина ПГ₂ из экссудата человека).

Гистологические исследования кусочков кожи кролика, в которую вводились исследуемые препараты*, показали, что цельные чужеродные экссудаты и активные глобулиновые фракции во многих случаях дают резко выраженную эмиграцию лейкоцитов и лейкоцитарную инфильтрацию на месте инъекции. Экссудаты собственного вида, а также слабо активные по проницаемости белковые препараты — эмиграции лейкоцитов не вызывают.

Опыты, проведенные в Институте хирургии АМН СССР И. Я. Учитель и С. И. Иткиным, показали, что действие на проницаемость капилляров активных глобулиновых фракций из экссудатов собаки, человека и кролика в большей мере зависит от состояния нервных рецепторов ткани и нервной системы в целом.

Чужеродные глобулины, дающие при однократном введении в кожу кролика обычную реакцию повышения проницаемости, способны при двукратном введении 2—20 мкг тому же кролику, с интервалом в несколько месяцев, вызывать в коже бурное гиперергическое воспаление.

Результаты, изложенные в этой и предыдущих работах, позволяют установить, что повышение проницаемости капилляров, вызываемое введением воспалительных экссудатов в кожу кролика, обусловлено действием α - или β -глобулинов экссудата, а не наличием в экссудате особых активных полипептидов⁽³⁾, адениловых производных⁽⁷⁾ или иных низкомолекулярных веществ. Действие на проницаемость капилляров кожи свойственно также одноименным глобулинам кровяной сыворотки. Оно связано в значительной мере, но не исключительно, с видовой чужеродностью этих глобулинов, которые при испытании на животных собственного вида проявляют лишь слабое действие на проницаемость капилляров. В коже животных собственного вида цельные экссудаты не только не повышают проницаемости капилляров, но даже нейтрализуют действие на проницаемость добавленных глобулинов как собственного вида, так и чужеродных, обладающих сильной активностью.

Наши данные опровергают механистические представления Менкина, согласно которым появление экссудата в очаге воспаления должно по принципу порочного круга вызывать и поддерживать дальнейшую экссудацию. Они говорят, напротив, в пользу того, что скопление серозного экссудата в очаге воспаления, вероятно, выполняет защитную функцию, способствуя нейтрализации и рассасыванию экзогенных и эндогенных белковых или иных веществ, играющих роль патологических раздражителей.

Институт биологической и медицинской химии
и Институт хирургии
Академии медицинских наук СССР

Поступило
23 II 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Т. С. Пасхина, ДАН, **86**, 609 (1952). ² Т. С. Пасхина, ДАН, **87**, 253 (1952).
³ В. Менкин, Динамика воспаления, пер., 1948. ⁴ E. S. Duntz, E. Chain, Brit. J. Exp. Path., **20**, 417 (1939). ⁵ H. Columbine, H. W. Rydon, *ibid.*, **27**, 33 (1946). ⁶ W. J. Spector, J. Path. Bact., **63**, 93 (1951). ⁷ Д. Е. Альперн, Р. У. Липшиц, ДАН, **80**, 489 (1951). ⁸ R. K. Morton, Nature, **166**, 1092 (1950).
⁹ V. Menkin, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **77**, 592 (1951). ¹⁰ E. J. Cohn et al., J. Am. Chem. Soc., **68**, № 3, 459 (1946).

* Гистологическое исследование проведено д-ром А. П. Майсюк (Институт хирургии АМН СССР).