

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.3

ВЛИЯНИЕ ЦИКЛИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ
НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТОВ

Э. Е. МХЕЯН, Ю. С. ГУНЯН, С. Э. АКОПОВ

Ключевые слова: циклические нуклеотиды, тромбоциты, секреция.

За последние годы были получены доказательства в пользу того, что клетки регулируют биохимические процессы и функции с помощью универсальных веществ—циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), рассматриваемых как универсальные клеточные гормоны [7]. Характер влияния этих веществ на клеточные процессы выяснен для многих тканей, однако в отношении тромбоцитов этот вопрос освещен недостаточно. Это в особенности относится к вопросу о влиянии цГМФ на агрегацию тромбоцитов. Ряд авторов считает, что цАМФ и цГМФ оказывают антагонистическое воздействие на агрегацию тромбоцитов [7], в других работах их действие расценивается как однонаправленное [5]. Неясен также механизм влияния циклических нуклеотидов на функциональное состояние тромбоцитов. В настоящей работе приводятся данные о влиянии цАМФ и цГМФ на основные параметры функционального состояния тромбоцитов и обсуждаются механизмы их действия.

Материал и методика. Тромбоциты и богатую тромбоцитами плазму (БТП) получали из свежей донорской крови. Агрегацию тромбоцитов изучали турбидиметрически [8] на агрегатометре, собранном на базе спектрофотометра Specord UVVIS. В качестве агрегантов использовали АДФ, адреналин и серотонин. О реакции высвобождения тромбоцитов судили по выбросу из них катионного красителя акридинового оранжевого (АО) [2]. Проницаемость тромбоцитов для серотонина определяли методом Оксенкруга [6]. Концентрацию внутритромбоцитарного Ca^{+2} оценивали по флуоресценции хлортетрациклина [3, 10]. Концентрация циклических нуклеотидов в пробе составляла $2 \cdot 10^{-8}$ моль. Результаты, представленные в таблице и на графиках, являются средними 5—10-ти опытов и статистически обработаны с применением непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни [1].

Результаты и обсуждение. Эксперименты показали (табл.), что цАМФ при инкубации в течение 15 мин с БТП ингибирует АДФ-зависимую агрегацию тромбоцитов на 15%, а после 3-часовой инкубации—на 41%. По-видимому, это связано с тем, что цАМФ, медленно проходящий через мембрану тромбоцитов, действует только с ее внутренней

стороны. Это подтверждается тем, что дибутирил-цАМФ, легко проходящий через мембрану [12], после 15-минутной инкубации с БТП действует более эффективно, чем цАМФ после 3-часовой инкубации. Зависимость эффекта от времени инкубации позволяет объяснить противоречивость данных о влиянии циклических нуклеотидов на агрегацию тромбоцитов. В опытах Никулина [5] цГМФ после 15-минутной инкубации незначительно подавлял агрегацию тромбоцитов, однако в дру-

Таблица

Влияние циклических нуклеотидов на некоторые параметры функционального состояния тромбоцитов

Циклические нуклеотиды, $2 \cdot 10^{-3}$ моль	Агрегация тромбоцитов, %			Дезагрегация тромбоцитов, %		Степень экзцитоза тромбоцитов, отн. ед.
	АДФ	серотонин	адреналин	АДФ	серотонин	
цГМФ 15-минутная инкубация	35,74 $p > 0,05$	31,1 $p > 0,05$	40,1 $p > 0,05$	17,1 $p > 0,05$	15,1 $p > 0,05$	8,8 $p > 0,05$
цГМФ 3-часовая инкубация	54,9 $p < 0,05$	44,5 $p < 0,05$	56,8 $p < 0,05$	19,2 $p > 0,05$	13,1 $p > 0,05$	12,9 $p < 0,05$
цАМФ 15-минутная инкубация	33,6 $p > 0,05$	30,8 $p > 0,05$	32,1 $p > 0,05$	18,1 $p > 0,05$	13,8 $p > 0,05$	8,0 $p > 0,05$
цАМФ 3-часовая инкубация	23,4 $p < 0,05$	18,4 $p < 0,05$	16,1 $p < 0,05$	24,3 $p < 0,05$	19,2 $p > 0,05$	4,6 $p < 0,05$
дибутирил-цАМФ 15-минутная инкубация	20,5 $p < 0,05$	14,1 $p < 0,05$	15,9 $p < 0,05$	26,8 $p < 0,05$	22,9 $p < 0,05$	4,3 $p < 0,05$
Контроль	39,7	30,4	33,8	17,8	14,3	8,3

гих работах описан противоположный характер его действия [7]. Возможно, при 15-минутной инкубации цГМФ не успевал пройти через мембрану тромбоцитов. В наших экспериментах после 15-минутной инкубации цГМФ не оказывал достоверного влияния на агрегацию тромбоцитов. Но после 3-часовой инкубации с БТП он значительно усиливал этот процесс (табл.). Следует отметить, что характер действия циклических нуклеотидов и его зависимость от времени инкубации не зависят от типа используемого агрегата (табл.)

Действуя на агрегацию тромбоцитов, циклические нуклеотиды оказывают влияние и на их способность выбрасывать под влиянием различных факторов содержимое своего гранулярного аппарата, что составляет суть так называемой реакции вывобождения. Как следует из таблицы, цАМФ тормозит выброс из тромбоцитов АО, а цГМФ, наоборот, усиливает этот процесс. Причем наблюдается такая же зависимость эффекта от времени, какая отмечается и в случае агрегации тромбоцитов, т. е. и в данном случае циклические нуклеотиды действуют на внутреннюю сторону тромбоцитарных мембран. Таким образом, циклические нуклеотиды способны регулировать выброс из тромбоцитов биоактивных веществ, что, возможно, опосредуется через их воздей-

ствие на сократительный белок тромбоцитов—тромбастенин. Одновременно они изменяют проницаемость тромбоцитов для серотонина, являющегося важнейшим компонентом той гаммы веществ, которая содержится в гранулярном аппарате тромбоцитов; цАМФ уменьшает, а цГМФ увеличивает поглощение серотонина тромбоцитами.

Выясняя механизм влияния циклических нуклеотидов на функциональное состояние тромбоцитов, мы изучали также их влияние на содержание внутритромбоцитарного Ca^{+2} , являющегося важнейшим регулятором тромбоцитарных функций [11]. Результаты экспериментов показали, что инкубация тромбоцитов с цАМФ приводит к уменьшению флуоресценции хлортетрациклина, свидетельствующему о снижении содержания Ca^{+2} , связанного с внутренней стороной тромбоцитарной мембраны [3]. В литературе есть данные о том, что цАМФ активирует M^{+2} , Ca^{+2} -АТФазу [4], которая локализуется в эндоплазматическом ретикулуме тромбоцитов [9]. Вероятно, повышение уровня внутритромбоцитарного цАМФ приводит к активации кальциевого насоса и откачке Ca^{+2} из цитоплазмы, что и лежит в основе влияния цАМФ на агрегацию и секрецию тромбоцитов. Однако цГМФ не оказывает существенного влияния на флуоресценцию хлортетрациклина, следовательно, эффект его опосредуется не через Ca^{+2} , а другими путями.

Итак, циклические нуклеотиды являются регуляторами функционального состояния тромбоцитов и нарушение их обмена может лежать в основе патологии тромбоцитов.

Ереванский медицинский институт

Поступило 13.V 1980 г

ՅԻԿԼԻԿ ՆՈՒԿԼԵՈՏԻԴՆԵՐԻ ԱԶԳԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՏՐՈՄԲՈՑԻՏՆԵՐԻ ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԿ ՎԻՃԱԿԻ ՎՐԱ

Է. Ե. ՄԵՆՅԱՆ, Յ.Ս. Ս. ԹՈՒՆՅԱՆ, Ս. Է. ՀԱՎՈՊՈՎ

Ցույց է տրվում, որ ց-ԱՄՖ-ը բնկճում է տրոմբոցիտների ազրեգացիան, և սեկրեցիան, ց-ԳՄՖ-ը ցուցաբերում է հակառակ ազդեցություն այդ ցուցանիշների վրա: Բացահայտված է, որ ցիկլիկ նուկլեոտիդներն իրենց կանոնավորող ազդեցությունը ցուցաբերում են տրոմբոցիտային մեմբրանի ներսի կողմից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Генкин Е. В., Гублер А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. М., 1973.
2. Козлов В. К. Цитология, 17, 7, 1975.
3. Коркина Л. Г., Брагин Е. О., Сороковой В. И., Владимиров Ю. А. Биофизика мембран. Каунас, 1973.
4. Микеладзе Д. Г. Сообщ. АН Груз. ССР, 87, 701, 1977.
5. Никулин А. А. Фармакол. и токсикол., 2, 177, 1978.
6. Оксенкруг Г. Ф. Вопр. мед. химии, 19, 3, 1973.

7. Федоров Н. А. Биологическое и клиническое значение циклических нуклеотидов. М., 1979.
8. Born G. V. *R. Naturae*, 194, 927, 1962.
9. Cutfer L., Rodan G., Feinstein M. *Biochim., Biophys. Acta*, 542, 357, 1978.
10. Le Breton G. C., Sander W, C., Feinberg H. *Thrombosis Res.*, 8, 477, 1976.
11. Massini P., Käser-Glanzmann R., Lüscher E. F. *Thromb. and Haemost.*, 40, 212, 1978.
12. Pastan J. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 25, 14, 1966.