

УДК 576.314

БИОФИЗИКА

Член-корреспондент АН Армянской ССР Э. С. Габриелян, А. О. Генджян,  
С. Э. Акопов, Л. Х. Симонян, С. А. Баджиян

### Исследование влияния липосом на агрегацию тромбоцитов

(Представлено 20/VI 1986)

Липосомы в настоящее время активно исследуются в качестве одного из перспективных методов направленного транспорта лекарственных средств (<sup>1</sup>). Это требует тщательного изучения влияния самих липосом на организм, и в особенности на кровь, с элементами которой липосомы прежде всего вступают в контакт при внутривенной инфузии. Известно, что липосомы с высоким содержанием холестерина могут увеличить его уровень в мембранах эритроцитов, микросомах, саркоплазматическом ретикулуме и т. д., а чисто фосфолипидные липосомы, наоборот, уменьшают содержание в них холестерина (<sup>2-4</sup>). Исследования в этом направлении немногочисленны и противоречивы, в частности неясно влияние на кровяные пластинки липосом с высоким содержанием холестерина. Согласно одним данным они подавляют агрегацию кровяных пластинок (<sup>5-6</sup>), согласно другим—усиливают ее (<sup>7</sup>).

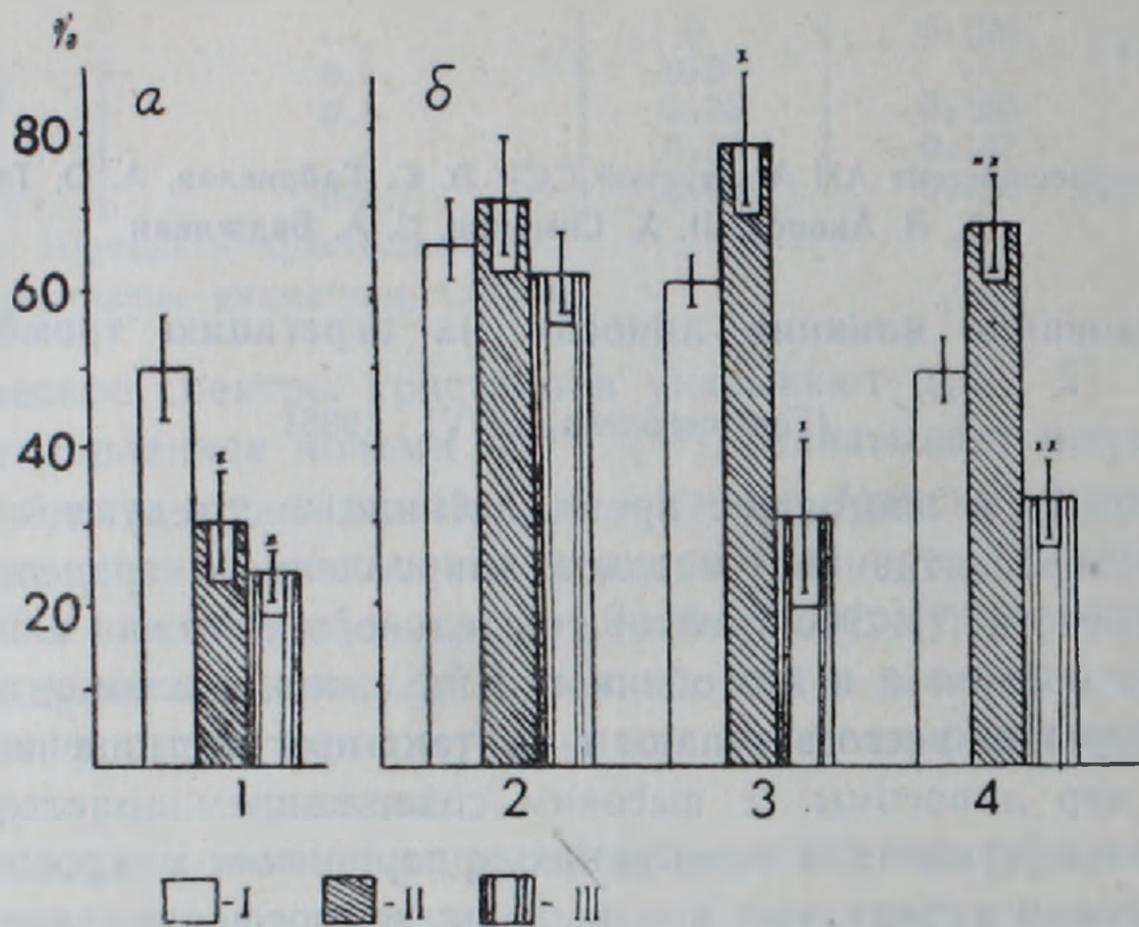
Целью настоящей работы явилось исследование влияния фосфолипидных и фосфолипид-холестериновых липосом на агрегацию кровяных пластинок.

Липосомы получили из яичного лецитина и холестерина в отношении 10:0,1 и 2:1. Навеску липида растворяли в хлороформе, упаривали на ротаторном вакуумном испарителе, затем к полученной пленке липида добавляли фосфатный буфер и озвучивали смесь на ультразвуковом диспергаторе УЗДН—1. Озвучивание проводилось дробно в течение 20 мин с интервалами в 1 мин. Измерением асимметрии светорассеяния на приборе марки «Sofica» определяли размер липосом, а на спектрофотометре—зависимость оптической плотности от длины волны; из этой зависимости были определены размеры везикул, которые оказались однородными и лежали в интервале размеров 150—200 нм.

Агрегация тромбоцитов человека исследовалась на агрегометре «Payton» (США). Влияние липосом на агрегацию проводили в двух вариантах. В первом липосомы добавляли в богатую тромбоцитами плазму (БТП) (300—350 тыс. клеток мкл<sup>-1</sup>) до концентрации липида 2 мг/мл и инкубировали в течение 5 мин при 37°. Во втором варианте тромбоциты отмывали, затем проводили их инкубацию с липосомами в течение 150 мин, после чего клетки вновь отмывали и ресуспендировали в растворе Тироде с фибриногеном. Агрегацию тромбоцитов индуцировали АДФ (10<sup>-5</sup>М), коллагеном (2мкг/мл) и адреналином (5·10<sup>-6</sup>М). Данные обработаны статистически с применением непараметрического

критерия Вилконсона—Манна—Уитни и парного критерия Вилконсона.

Как видно на рисунке, липосомы из лецитина и холестерина как в отношении 10:0,1, так и 2:1 подавляют после 5-минутной инкубации АДФ-индуцированную агрегацию кровяных пластинок, ингибирующий



Влияние липосом на агрегацию тромбоцитов в БТП (а) и отмытых тромбоцитов (б): I—контроль; II—после обработки лецитин-холестериновыми липосомами 10:0,1; III—после обработки лецитин-холестериновыми липосомами 2:1. По оси ординат—агрегация тромбоцитов в % падения оптической плотности. Одна звездочка— $p < 0,05$ ; две— $p < 0,01$ . 1,2—АДФ; 3—коллаген, 4—адреналин

эффект сохранялся и через 30 мин, хотя и был менее выраженным. В отдельных экспериментах было установлено, что и коллаген-индуцированная агрегация также подавляется липосомами в этих условиях. При этом эффект липосом с высоким содержанием холестерина был несколько более сильным (рисунок).

Иная картина наблюдалась в случае исследования влияния липосом на отмытые тромбоциты в условиях их длительной инкубации. В подобных условиях, как это было показано в многочисленных исследованиях, идет интенсивный обмен липидными компонентами между липосомами и клетками, с которыми они контактируют. При этом в случае липосом с высоким содержанием холестерина его уровень в клеточных мембранах увеличивается, а в случае липосом с низким содержанием холестерина, напротив, уменьшается, причем эти изменения могут быть весьма выраженными (2-5,7). Проведенные эксперименты показали, что обогащение и обеднение тромбоцитов холестерином соответственно увеличивает и понижает агрегируемость под действием различных индукторов. Этот эффект был мало выражен для АДФ-индуцированной агрегации, но весьма значителен для агрегации, индуцированной коллагеном и адреналином (рисунок).

Таким образом, проведенное исследование показало, что при воздействии липосом с различным содержанием холестерина на тромбоциты приходится считаться с двумя факторами. С одной стороны,

может наблюдаться ингибирование агрегации, которое имеет место непосредственно в плазме. Этот эффект, по-видимому, не связан с обменом липидными компонентами между липосомами и тромбоцитами, а обусловлен каким-то другим механизмом.

Однако если условия воздействия липосом на тромбоциты допускают интенсивный обмен между ними липидных компонентов, то здесь начинают проявляться мембранные эффекты холестерина, которые приводят к иным изменениям агрегируемости тромбоцитов. Ее увеличение в случае воздействия липосом с высоким содержанием холестерина может быть связано с подавлением активности Na K-АТФазы, характерным для повышенного содержания холестерина в мембранах (3,4), поскольку известно, что ингибирование активности этого фермента приводит к повышению способности тромбоцитов к агрегации (5). Можно заключить, что при исследовании возможностей использования липосом в качестве носителей лекарственных средств необходимо учитывать характер их воздействия, его длительность и т. д. и соответственно подбирать их липидный состав. По-видимому, липосомы с низким содержанием холестерина вообще могут использоваться в качестве средства для коррекции повышенной агрегируемости кровяных пластинок, которое может быть усилено включением в липосомы соответствующих лекарственных средств.

НИИ медицинской радиологии Министерства Здравоохранения  
Армянской ССР  
Ереванский государственный  
медицинский институт  
Ереванский государственный  
университет

Հայկական ՍՍՀ ԿԱ րդրակից անդամ է. Ս. ԳԱՐԻԵԼՅԱՆ, Հ. Օ. ԳՅՈՆՋՅԱՆ,  
Ս. Է. ԱԿՈՊՈՎ, Լ. Խ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Ս. Ա. ԲԱԶԻՆՅԱՆ

### Թրոմբոցիտների ագրեգացիայի վրա լիպոսոմների ազդեցության ուսումնասիրությունը

Ուսումնասիրվել է ֆոսֆոլիպիդների և ֆոսֆոլիպիդ-խոլեստերինային լիպոսոմների ազդեցությունը թրոմբոցիտների ագրեգացիայի վրա:

Հայտնաբերվել է, որ խոլեստերին պարունակող լիպոսոմները մեծացնում են թրոմբոցիտների զգայնությունը ագրեգացիայի մակաժիլների նկատմամբ, իսկ ֆոսֆոլիպիդային լիպոսոմները ցածրացնում են այն: Ենթադրվում է, որ այն կապված է լիպոսոմների հետ լիպիդային բաղադրամասերի ինտենսիվ փոխանակության ընթացքում թրոմբոցիտների ճարպային կազմի փոփոխության հետ:

### ЛИТЕРАТУРА — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

<sup>1</sup> G. Maierhofer, Ant Lab., v. 15, 5 (19). <sup>2</sup> Е. А. Бородин, В. И. Сергиенко, Э. М. Халилов и др., Вопросы мед. химии, № 2, 1981. <sup>3</sup> А. Д. Таганович, Э. И. Олецкий, В. К. Кухта, Вопр. мед. химии, № 5, 1985. <sup>4</sup> Ю. М. Лопухин, А. И. Арчаков, Ю. А. Владимиров и др., Холестериноз, Наука, М., 1983. <sup>5</sup> Э. С. Габриелян, С. Э. Акопов, Клетки крови и кровообращение, Айастан, Ереван, 1985. <sup>6</sup> В. Р. Бедичевский, Р. А. Маркосян, Е. Я. Позин и др., Бюл. exper. биол. и мед., № 8, 1979. <sup>7</sup> P. A. Nierenberg, P. A. Sysel, Y. Turulull e. a., Biochemistry, v. 17 (1978).