

УДК 616.127—005.8—07:616.151.5:547.915

МЕДИЦИНА

Член-корреспондент АН Армянской ССР Г. О. Бадалян, Н. Г. Епископосян

**АДФ-индуцированная агрегация нативных и обогащенных
ганглиозидами тромбоцитов крови больных инфарктом миокарда
в динамике заболевания**

(Представлено 27/IV 1987)

Все возрастающее число фактов свидетельствует о ведущей роли тромбоцитарного звена системы регуляции агрегатного состояния крови (РАСК) и эффективности корректоров агрегации и адгезии тромбоцитов при расстройствах тканевой микроциркуляции (¹). За последние годы указанные расстройства особенно интенсивно разрабатываются при ишемической болезни сердца (²⁻⁴).

Среди многочисленных индукторов агрегации тромбоцитов наибольшее внимание исследователей привлекает АДФ, что послужило основанием для формулирования положения об универсальной роли последней в многоступенчатом процессе агрегации тромбоцитов (⁵). Хотя представление о том, что АДФ является узловым фактором общего пути механизма агрегации, экспериментально не подтвердилось, многочисленные данные, освещающие механизмы проагрегантного действия АДФ, свидетельствуют о важной роли в рецепции индуктора популяции АДФ-рецепторов мембран тромбоцитов (⁶).

Исследованиями последних лет выявлено, что наряду с рецепторными белками в связывании АДФ с плазматическими мембранами тромбоцитов участвуют структурные компоненты клеточных мембран липидной природы—гликосфинголипиды, которые в настоящее время рассматриваются как класс мембранных рецепторов (⁷). Показано, что обогащение тромбоцитарных мембран кислыми гликосфинголипидами (ганглиозидами) сопровождается усилением АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (⁸). Наличие высокого сродства ганглиозидов с Ca^{2+} и важная роль ионов кальция во взаимодействии АДФ с рецепторными структурами (⁹) позволили сделать допущение о том, что ганглиозиды формируют дополнительные участки воздействия для комплекса Ca—АДФ (¹⁰) за счет входящих в их состав отрицательно заряженных остатков нейраминных кислот.

Располагая данными об увеличении в клеточных элементах и плазме крови больных инфарктом миокарда ганглиозидов и понижении активности ферментов их распада, коррелирующими с высокой АДФ-индуцированной агрегацией тромбоцитов (¹¹), в настоящем исследовании мы ставили перед собой задачу изучить АДФ-индуцированную агрегацию нативных и обогащенных ганглиозидами тромбо-

цитов крови больных инфарктом миокарда в различные сроки заболевания.

Исследовали агрегационную активность тромбоцитов крови больных инфарктом миокарда в остром периоде заболевания (1—3-ьи сутки) и в динамике (10-й, 20-й и 30-й дни). Из числа обследованных больных (42) у 31 был диагностирован крупноочаговый инфаркт, у 11—мелкоочаговый. Средний возраст больных составлял 53 года. В качестве контроля использовали кровь 22 практически здоровых лиц (доноров). Кровь забирали венепункцией из локтевой вены, стабилизировали 3,8%-ным раствором цитрата натрия в соотношении 1:9, центрифугировали в течение 10 мин при 1000 об/мин. Богатую тромбоцитами плазму (БТП) индуцировали АДФ в концентрации 10^{-7} моль. Агрегацию тромбоцитов определяли по (12). При анализе агрегограмм оценивали следующие величины: максимальную агрегацию тромбоцитов (ma), время максимальной агрегации ($t_{max a}$), среднюю скорость агрегации ($V_{cp a}$), максимальную дезагрегацию (mda), время максимальной дезагрегации ($t_{max da}$), среднюю скорость дезагрегации ($V_{cp da}$). Обогащение тромбоцитов суммарной фракцией ганглиозидов осуществляли по (13). Ганглиозиды растворяли непосредственно в плазме крови в конечной концентрации 300 мкг/мл. Полученный материал был подвергнут статистической обработке с оценкой достоверности по критерию Стьюдента.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что при двухчасовой преинкубации ганглиозидов с БТП крови практически здоровых лиц отмечается существенное увеличение показателя ma , который, составляя в контроле $28,5 \pm 2,5\%$, достигает $45,6 \pm 7,0\%$. Именно в указанные сроки по данным (14) происходит встраивание ганглиозидов в мембранные структуры форменных элементов крови, т.н. их «обогащение». Обращает на себя внимание то обстоятельство, что одновременно отмечается уменьшение величины такого важного показателя, характеризующего функциональное состояние тромбоцитов, как mda , который падает более чем в три раза (рис. 1, 2).

Иная ситуация складывается при исследовании последствий обогащения БТП крови больных инфарктом миокарда. Установлено, что в условиях повышенной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, наблюдаемой в острейшем периоде заболевания, когда показатель ma достигает $61,2 \pm 4,0\%$, при двухчасовом контакте с ганглиозидами максимальная агрегационная активность тромбоцитов не возрастает, а, наоборот, снижается до $40,3 \pm 1,7\%$. Следовательно, выявляются качественные различия в функциональном поведении обогащенных ганглиозидами тромбоцитов крови практически здоровых лиц и больных инфарктом миокарда. В то же время примечательно, что величина mda тромбоцитов крови больных, как и доноров, снижается, хотя и статистически недостоверно.

На 10-й день заболевания, когда отмечается максимальное значение величины ma ($68,8 \pm 7,0\%$), обогащение тромбоцитов ганглиозидами способствует уменьшению АДФ-индуцированной агрегации более чем вдвое ($30,2 \pm 5,8\%$). Одновременно вновь выявляется выраженное уменьшение показателя mda . К 20-му дню у больных инфарктом мио-

карда агрегационная активность тромбоцитов значительно снижается, при этом представляет интерес то обстоятельство, что их обогащение ганглиозидами статистически достоверно не влияет на величину mda и не отражается на показателе mda . Наконец, на 30-й день заболе-

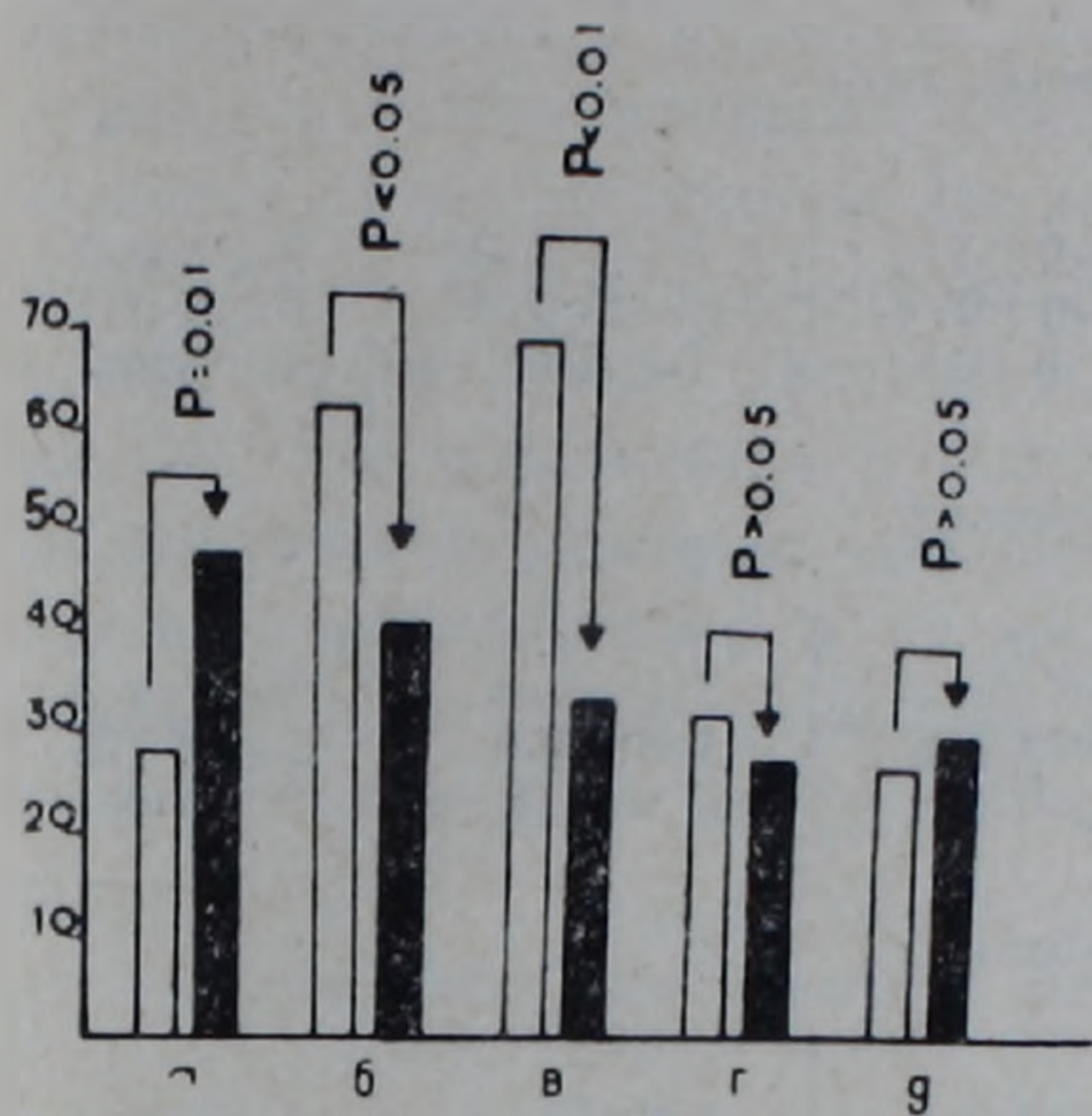


Рис. 1. АДФ-индуцированная агрегация нативных и обогащенных ганглиозидами тромбоцитов крови практически здоровых лиц и больных инфарктом миокарда в динамике заболевания. По оси ординат—величина максимальной агрегации в %; по оси абсцисс—а—практически здоровые лица; б—ОИМ, в, г, д—соответственно 10-й, 20-й и 30-й дни заболевания. Обозначения: белые столбики—нативные тромбоциты, черные—тромбоциты, обогащенные ганглиозидами

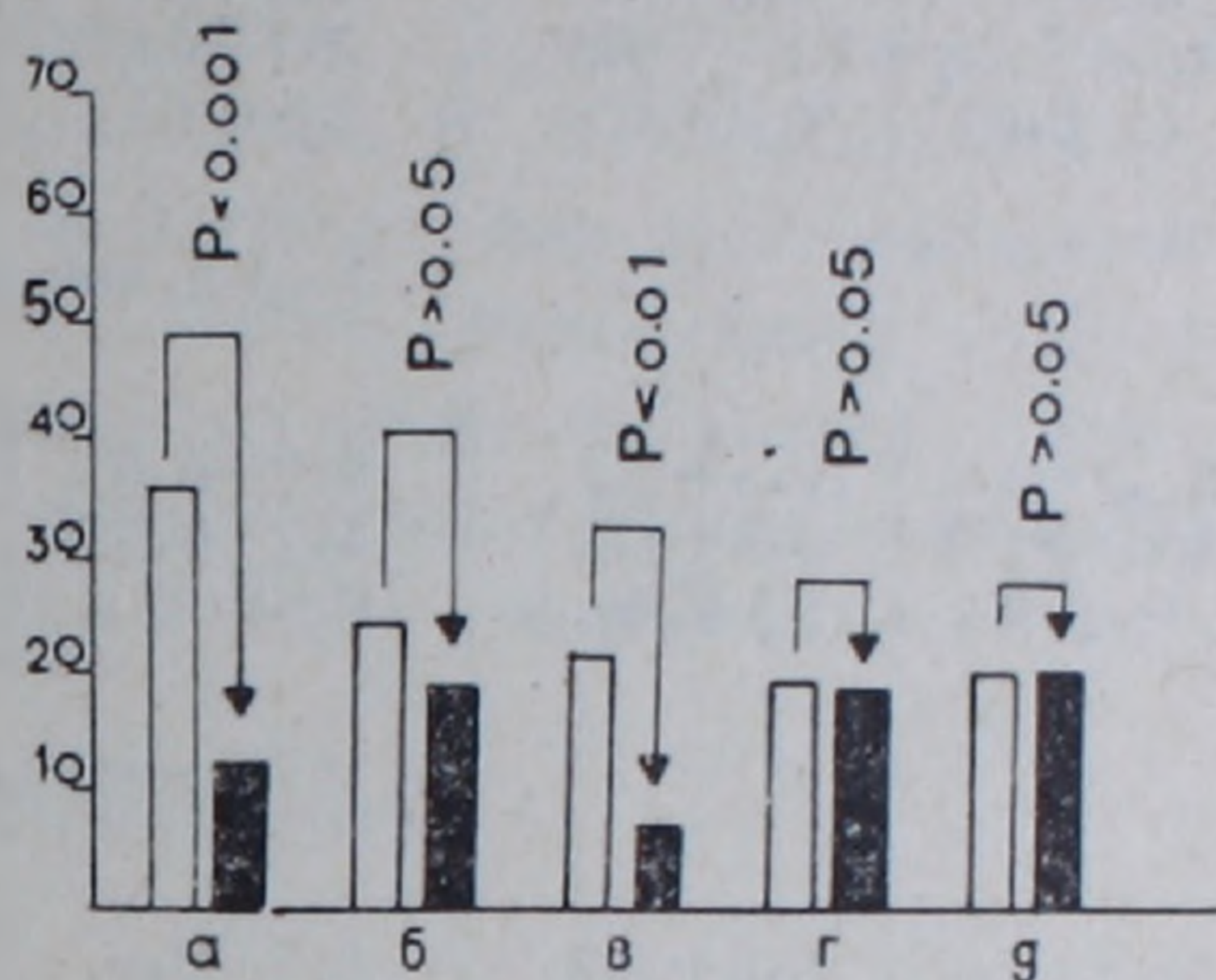


Рис. 2. Дезагрегационная активность индуцированных АДФ нативных и обогащенных ганглиозидами тромбоцитов крови практически здоровых лиц и больных инфарктом миокарда в динамике заболевания. По оси ординат—величина максимальной дезагрегации в %; по оси абсцисс обозначения те же, что на рис. 1.

вания на фоне пониженной агрегационной активности нативных тромбоцитов ганглиозиды несколько увеличивают mda , не влияя на уровень mda тромбоцитов.

При рассмотрении выявленных сдвигов в совокупности следует подчеркнуть следующие характерные особенности. Если у практически здоровых лиц ганглиозиды способствуют активации процесса АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов и одновременно ингибируют их дезагрегацию, то у больных инфарктом миокарда в 1—3-й дни заболевания, и особенно на 10-й день, наблюдаются своеобразные ножицы, когда агрегационная активность обогащенных ганглиозидами тромбоцитов снижается, но в то же время падает и величина mda (таблица).

Индукцированная малыми концентрациями вторая волна, именуемая дезагрегацией, рассматривается в настоящее время как результат энзиматического расщепления АДФ до АМФ, которая, как и другие продукты метаболической дегградации АДФ: аденин, инозин, гипоксантин и особенно аденозин, может конкурировать с индуктором за центры связывания на мембране и тем самым способствовать дезагрегации тромбоцитов (¹⁵). Предполагается и другой механизм—ресинтез из АДФ АТФ под действием нуклеотидфосфатазы (¹⁶). Не располагая

Влияние ганглиозидов на АДФ-индуцируемую агрегацию тромбоцитов крови практически здоровых лиц и больных инфарктом миокарда в динамике заболевания

ma, %	t _{maxa} , мин	V _{срa} , мин	mda, %	t _{maxda} , мин	V _{срda} , мин
-------	-------------------------	------------------------	--------	--------------------------	-------------------------

Практически здоровые лица

1) 28,6±2,5	6,5±0,3	4,3±0,1	23,0±3,0	9,7±2,0	2,3±0,3
2) 45,6±7,0	13,0±0,3	3,4±0,3	6,0±0,4	19,0±2,5	0,3±0,1
P<0,01	P<0,001	P>0,05	P<0,001	P<0,002	P<0,05

1—3-й дни заболевания

1) 61,2±4,0	11,3±1,7	6,2±0,6	11,8±0,3	8,7±0,3	1,6±0,3
2) 40,3±1,7	8,6±1,3	4,9±0,3	9,4±3,8	4,8±0,6	2,1±0,3
P<0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05

10-й день заболевания

1) 68,8±7,0	8,0±1,7	8,5±2,1	10,3±3,9	8,2±2,7	1,2±0,3
2) 30,2±5,8	6,8±1,1	4,2±0,4	3,5±1,0	3,1±0,8	1,0±0,4
P<0,01	P>0,05	P<0,05	P<0,01	P<0,05	P>0,05

20-й день заболевания

1) 31,5±3,8	9,1±1,9	3,4±0,3	10,0±2,9	5,4±0,3	2,0±0,3
2) 24,5±5,0	5,5±0,3	4,5±1,0	10,0±0,3	4,5±0,3	2,0±0,4
P>0,05	P<0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05

30-й день заболевания

1) 29,0±0,6	10,5±2,8	1,3±0,3	10,5±0,3	4,5±0,2	2,5±0,4
2) 27,7±4,0	7,0±0,6	3,8±0,4	10,7±1,0	11,0±0,3	0,9±0,1
P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05	P>0,05

Примечание. 1) — нативные тромбоциты; 2) тромбоциты, обогащенные ганглиозидами. Ганглиозиды использовали в конечной концентрации 300 мкг/мл; пренкубация 2 ч при 37°C.

прямыми данными, лишь можно допустить, что воздействие таких амфифильных соединений, каковыми являются ганглиозиды, на разнонаправленные процессы агрегации и дезагрегации имеет довольно сложную природу и находится в непосредственной зависимости от конкретного функционального состояния тромбоцитов, включая доступность их мембран для внедрения церамидной части ганглиозидов, микроокружение, состояние гликокаликса, нуклеотидного пула тромбоцитов. Следует также учитывать наличие у ганглиозидов способности взаимодействовать с немышечными сократительными белками (¹⁷), к числу которых относится и тромбастенин.

Достаточно трудным представляется вопрос и о роли входящих в структуру ганглиозидов остатков нейраминных кислот в индуцированной ганглиозидами перестройке функционального состояния тромбоцитов в норме и при патологии. Так, считают (¹⁸), что имеется определенный параллелизм между содержанием нейраминной кислоты в тромбоцитах и степенью их агрегируемости. В то же время установ-

лено увеличение агрегационной активности тромбоцитов при отщеплении нейраминных кислот нейраминидазой (¹⁹). Наконец, показано, что экзогенная нейраминная кислота ингибирует процесс агрегации тромбоцитов (²⁰). Можно согласиться с мнением о том, что различно локализованные в молекуле ганглиозидов и пространственно ориентированные в мембранных структурах молекулы нейраминной кислоты выполняют неоднородную физиологическую роль. Именно с этих позиций можно подойти к оценке неоднозначных эффектов ганглиозидов на функциональную активность тромбоцитов. В частности, не исключается, что выявленная у больных инфарктом миокарда выраженная насыщенность мембран клеточных элементов крови ганглиозидами, с высоким содержанием в их молекуле нейраминных кислот, является своеобразным лимитирующим фактором, ограничивающим внедрение в плазматические мембраны дополнительных количеств ганглиозидов.

Ереванский государственный медицинский институт

Հայկական ՍՍՀ ԳԱ Թղթակից անդամ Գ. Հ. ԲԱԴՅԱՆ, Ն. Հ. ԵՊԻՍԿՈՍՅԱՆ

Սրտամկանի ինֆարկտով տառապող հիվանդների մոտ առյուծ ինտակտ և գանգլիոզիդներով հարստացված թրոմբոցիտների ԱԴՖ խթանված ագրեգացիան հիվանդության ընթացքում

Բացահայտված է, որ գանգլիոզիդները ուժեղացնում են պրակտիկապես առողջ մարդկանց առյուծ թրոմբոցիտների ագրեգացիան ԱԴՖ-ի կողմից: Սրտամկանի ինֆարկտի սուր շրջանում (1—3 օր) թրոմբոցիտների հարստացումը գանգլիոզիդներով ուղեկցվում է հակառակ էֆեկտով՝ մաքսիմալ ագրեգացիայի իջեցումով:

Հիվանդության 10-րդ օրը գանգլիոզիդները նույնպես նվազեցնում են թրոմբոցիտների ագրեգացիոն ակտիվությունը, ուշագրավ է, որ միաժամանակ նվազում է նաև թրոմբոցիտների ղեկ ագրեգացիան:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ В. А. Люсов, Ю. Б. Белоусов, Тер. архив, т. 52, № 5 (1980). ² В. А. Люсов, Ю. Б. Белоусов, Кардиология, т. 14, № 4 (1970). ³ Г. О. Бадалян, Н. Г. Епископосян, С. Э. Акопов, Кардиология, т. 23, № 9 (1983). ⁴ Г. О. Бадалян, Н. Г. Епископосян, Тер. архив, т. 40, № 11 (1983). ⁵ J. E. Mustard, M. A. Packham, Drugs, v. 10 (1975). ⁶ J. P. Lips, J. J. Sixma, M. E. Schlports, Biochim. biophys. acta, v. 628 № 4 (1980). ⁷ Q. R. Critchley, S. Ansell, S. Qilks, Biochem. Soc. Trans, v. 7, № 2 (1979). ⁸ Э. Е. Мхоян, О. П. Соцкий, С. А. Баджиян и др., Биофизика, т. 25, № 4 (1980). ⁹ D. Boullin, P. A. M. Glenton e. a., Brit. J. Pharmacol., v. 61, № 3 (1977). ¹⁰ Э. С. Габриелян, С. Э. Акопов, Клетки крови и кровообращение, Ереван, Айастан, 1985. ¹¹ Г. О. Бадалян, Н. Г. Епископосян, О. П. Соцкий и др., Кардиология, т. 26, № 5 (1986). ¹² G. V. R. Born, Nature, v. 194, № 9 (1962). ¹³ R. Callies e. a., Europ. J. Biochem, v. 80 (1977). ¹⁴ Э. Е. Мхоян, Г. О. Бакуиц, С. Э. Акопов, Журн. экспериментальной и клинич. мед. АИ АрмССР, т. 20, № 2 (1980). ¹⁵ J. P. Caen, C. S. Jenkins e. a., in: Platelet Aggregat. and Drugs., London, 1974. ¹⁶ R. Adler, R. J. Handin, J. Biol. Chem., v. 254, № 10 (1979). ¹⁷ Р. Н. Глебов, Г. Н. Крыжановский В. И. Швец и др., Биохимия, т. 47 (1982). ¹⁸ V. M. Haver, A. A. L. Gear, J. Lab. and Clin. Med., v. 97, № 2 (1981). ¹⁹ J. Greenberg, M. A. Packham e. a., Lab. Invest, v. 32, № 4 (1975). ²⁰ H. Patscheke, Hemostasis, v. 8, № 2 (1979).