

УДК 612.117:615.22

Р. С. БЕКЯН, С. Э. АКОПОВ

ВЛИЯНИЕ ЭУФИЛЛИНА НА НЕКОТОРЫЕ БИОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ

Изучение влияния эуфиллина на деформируемость и агрегацию форменных элементов крови показало, что эуфиллин повышает способность эритроцитов к деформации, причем этот эффект исчезает на эритроцитах, истощенных по АТФ. Установлено, что эуфиллин понижает агрегацию и усиливает дезагрегацию тромбоцитов. На агрегацию эритроцитов эуфиллин не оказывает влияния, но в больших дозах вызывает частичную дезагрегацию эритроцитарных комплексов. Предполагается, что действие эуфиллина на форменные элементы крови реализуется через изменение содержания внутриклеточного АТФ.

Одним из определяющих патофизиологических факторов при нарушениях регионарного кровообращения является уменьшение кровотока на уровне микроциркуляции. Обнаружено, что при расстройствах циркуляции крови в мозге отмечается повреждение ряда гемореологических факторов, регулирующих капиллярный кровоток: повышение вязкости крови, агрегации тромбоцитов и эритроцитов [12]. В связи с этим в настоящее время большое значение придается препаратам, действие которых направлено на оптимизацию биофизических свойств крови и нормализацию нарушенного кровотока [9].

Эуфиллин является одним из наиболее эффективных средств в терапии цереброваскулярных расстройств [1, 11]. Помимо непосредственного влияния на сосуды мозга, обнаружено наличие у эуфиллина нейрорхимического компонента в механизмах его действия на кровоснабжение головного мозга [8]. Между тем не исключена возможность, что эуфиллин способен оказывать действие и на некоторые компоненты гемореологии, что и явилось предметом настоящего сообщения.

Методика исследования

Эритроциты и богатую тромбоцитами плазму (БТП) получали из свежей донорской крови и крови больных инсультом, стабилизированной цитратом натрия. Для получения БТП пробы центрифугировали в течение 20 мин при 1000 об. в мин. при 4°C. [7]. Плазму разводили до концентрации тромбоцитов—300000—400000 в 1 мм³. Отделенные от

плазмы эритроциты трижды отмывали в изотоническом растворе 150 mM NaCl трис-HCl буфера, pH 7,4.

Осадок эритроцитов перед опытом разводили в соотношении 1:400 в том же буфере. Концентрацию клеток крови определяли методом В. И. Клеина [2]. Агрегацию тромбоцитов и эритроцитов регистрировали методом Вопп [13] в модификации O'Brien [14] на спектрофотометре «Specol» с непрерывным перемешиванием пробы магнитной мешалкой. Агрегацию тромбоцитов вызывали добавлением АДФ в концентрации 200 мкг/мл, агрегацию эритроцитов—трипсином (0,5 мг/мл). Анализ агрегатограмм проводили методом В. А. Люсова и сотр. [6]. О способности эритроцитов к деформации судили по их прохождению через фильтр со средним диаметром 10 мкм при фильтрационном давлении 40 мм водного столба. Количество эритроцитов, прошедших через фильтр, определяли по спектрам светорассеивания [2]. Истощение эритроцитов по АТФ производили их инкубацией при комнатной температуре в течение 45 часов в изотоническом буфере [15]. Рефрактерные тромбоциты получены инкубацией их с АДФ по методу И. Л. Лисовской и сотр. [3]. Результаты экспериментов обработаны методом вариационной статистики с применением критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Как следует из таблицы, эуфиллин в концентрации 250 мкг/мл вызывает повышение способности эритроцитов к деформации на $15 \pm 0,9\%$ по сравнению с контролем ($P < 0,05$). Повышение концентрации эуфиллина до 500 мкг/мл не дает статистически достоверного роста его эффекта на деформируемость эритроцитов, таким образом, доза 250 мкг/мл является, по-видимому, насыщающей. Сравнение влияния эуфиллина на деформируемость эритроцитов здоровых доноров и больных инсультом не выявило статистически достоверных изменений.

Для выяснения возможных механизмов, опосредующих эффект эуфиллина на деформируемость эритроцитов, изучено сравнительное влияние препарата на интактные эритроциты и эритроциты, истощенные по АТФ. Установлено, что эффект эуфиллина в концентрации 250 мкг/мл исчезает и даже сменяется некоторым подавлением деформационной способности эритроцитов ($P > 0,05$). По-видимому, эффект эуфиллина реализуется через изменение концентрации АТФ и повышение соотношения АТФ/АДФ, что, по литературным данным, сопровождается повышением гибкости эритроцитарных мембран.

В следующей серии опытов изучалось влияние эуфиллина на агрегацию форменных элементов крови. Как видно из приведенных данных, эуфиллин оказывает выраженное влияние на агрегацию тромбоцитов, что выражается в заметном снижении агрегации тромбоцитов, причем указанный эффект зависит от концентрации эуфиллина. Снижая степень тромбоцитарных агрегатов, эуфиллин одновременно понижает их

Таблица

Влияние эуфиллина на параметры агрегации тромбоцитов и эритроцитов

Концентрация эуфиллина в мкг/мл	Т р о м б о ц и т ы				Э р и т р о ц и т ы	
	степень агрегации в ед. Е	степень дезагрега- ции в ед. Е	степень обратимости агрегации в %	скорость обратимости агрегации в %	степень агрегации в ед. Е	степень дезагрега- ции в ед. Е
Контроль № 1	$0,142 \pm 0,0012$	$0,07 \pm 0,0008$	$49,0 \pm 1,37$	$29,0 \pm 1,4$	$0,21 \pm 0,0011$	—
100 № 2	$0,138 \pm 0,0014$	$0,074 \pm 0,001$	$53,0 \pm 1,3$	$32,0 \pm 1,4$	$0,22 \pm 0,0013$	—
250 № 3	$0,125 \pm 0,0025$	$0,076 \pm 0,0015$	$61,0 \pm 3,6$	$35,0 \pm 1,8$	$0,2 \pm 0,005$	$0,04 \pm 0,0002$
500 № 4	$0,119 \pm 0,003$	$0,075 \pm 0,001$	$63,0 \pm 2,7$	$40,0 \pm 1,7$	$0,215 \pm 0,0038$	$0,06 \pm 0,0001$
P_{1-2}	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$	
P_{1-3}	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$	
P_{1-4}	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$	
P_{2-3}	$< 0,05$	$> 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$		
P_{3-4}	$< 0,05$	$> 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$		$> 0,05$

Примечание. В таблице приведены данные 10 опытов.

стабильность, что выражается в увеличении степени и скорости обратимости агрегации. Полученные данные в свете существующих представлений о важной роли агрегации тромбоцитов в патогенезе нарушений мозгового и коронарного кровообращения позволяют заключить, что эффект эуфиллина на агрегацию тромбоцитов играет немаловажную роль в реализации его лечебного действия. Одновременно установлено, что эуфиллин практически не влияет на агрегацию эритроцитов. Однако обращает на себя внимание то, что при добавлении эуфиллина к уже образовавшимся эритроцитарным агрегатам наблюдается достаточно выраженная дезагрегация эритроцитарных комплексов.

С целью раскрытия некоторых механизмов влияния эуфиллина на агрегацию тромбоцитов изучалось его действие на рефрактерные по АДФ тромбоциты, т. е. в условиях вызываемого АДФ снижения агрегации при его повторных добавлениях к суспензии тромбоцитов. Полученные данные показали, что инкубация эуфиллина с тромбоцитами повышает рефрактерность к АДФ. Как известно из литературных данных, рефрактерность тромбоцитов связана с их способностью поддерживать достаточно высокий уровень АТФ вблизи насосных АТФ-аз [5]. При утрате этой способности (например, под действием KCN) рефрактерность тромбоцитов к АДФ исчезает [3]. Следовательно, можно предположить, что эффект эуфиллина связан, по-видимому, с его способностью поддерживать высокий уровень АТФ в тромбоцитах за счет влияния его на внутриклеточные механизмы энергообеспечения клетки. Однако не исключено, что эуфиллин влияет на агрегацию тромбоцитов, подавляя активность фосфодиэстеразы, что, согласно литературным данным [9], приводит к росту концентрации цАМФ, увеличению фосфорилирования за счет АТФ цАМФ-зависимыми протейкиназами мембранных белков, появлению дополнительного заряда на мембране и уменьшению агрегации. Важно отметить, что эффект эуфиллина на эритроциты не может реализоваться через цАМФ, поскольку эффект цАМФ на эритроцитарные мембраны полярен эффекту эуфиллина [10].

Таким образом, проведенные исследования выявили у эуфиллина способность оказывать выраженное воздействие на некоторые биофизические свойства крови, что, возможно, является важным компонентом его лечебного действия.

Кафедра фармакологии

Ереванского медицинского института

Поступила 11/IV 1979 г.

Ռ. Ս. ԲԵՎՅԱՆ, Է. Ս. ԱՎԻՈՂ

ԷՆԴՈՔՐԻՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԷՐԻԹՐՈՑԻՏՆԵՐԻ ԵՎ ԹՐՈՄԲՈՑԻՏՆԵՐԻ ՈՐՈՇ ԲԻՈՖԻԶԻԿԱԿԱՆ ՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎՐԱ

Արյան ձևավոր տարրերի դեֆորմացիայի և ագրեգացիայի վրա էնդոքրինի ազդեցության փոփոխությունը ցույց տվեց, որ վերջինս բարձրացնում

է էրիթրոցիտների դեֆորմացիայի ունակությունը: Էրիթրոցիտներում ԱՏՖ-ի հյուսվածքային պայմաններում այդ ներգործությունը վերանում է:

Պարզված է, որ էուֆիլլինը իջեցնում է թրոմբոցիտների ագրեգացիան և ուժեղացնում է նրանց դեզագրեգացիան: Էրիթրոցիտների ագրեգացիայի վրա էուֆիլլինը ազդեցություն չի գործում, սակայն մեծ դոզաներով առաջացնում է էրիթրոցիտների կոմպլեքսների դեզագրեգացիա: Ենթադրվում է, որ էուֆիլլինի ազդեցությունը արյան ձևավոր տարրերի վրա պայմանավորված է ներբջջային ԱՏՖ-ի փոփոխություններով:

R. S. BEKIAN. S. E. AKOPOV

THE EUPHYLLINE EFFECT UPON CERTAIN BIOPHYSICAL CHARACTERISTICS OF ERYTHROCYTES AND THROMBOCYTES

Studies of the euphylline effects upon deformation and aggregation of blood elements have shown that the latter increases the deformation capacity of erythrocytes. In conditions of ATP inactivation the effect is vanished. Euphylline reduces the aggregation of thrombocytes and increases their disaggregation. Upon the aggregation of erythrocytes euphylline does not have an effect but larger dosages cause disaggregation of erythrocyte complexes. The euphylline effect upon blood elements in a function of intercellular ATP changes is supposed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виленский Б. С., Майборода Л. А. VI съезд невропатологов и психиатров СССР. М., 1975, стр. 37.
2. Кленин В. И., Степович Л. В., Хайруллина А. Б., Чемолосов Ю. В. Биофизика, 1978, 23, стр. 658.
3. Лисовская И. Л., Волкова Р. И., Позин Е. Я., Маркосян Р. А. Бюлл. exper. биол. 1976, 18, стр. 940.
4. Лисовская И. Л., Волкова Р. И., Маркосян Р. А. Бюлл. exper. биол., 1974, 10, стр. 24.
5. Лисовская И. Л., Маркосян Р. А., Волкова Р. И. Физиол. журнал СССР, 1973, 5, стр. 789.
6. Люсов В. А., Белоусов Ю. Б., Савенков М. П. Лабор. дело, 1976, 8, стр. 463.
7. Люсов В. А., Белоусов Ю. Б. Лабор. дело, 1971, 8, стр. 459.
8. Мирзоян С. А., Мовсесян С. Г., Бекян Р. С. ДАН Арм. ССР, 1978, 4, стр. 246.
9. Стефанович В. Сб. докл. симпозиума на тему: Клиническое значение препарата трептала. М., 1977, стр. 16.
10. Финин В. С., Вологовский И. Д., Конев С. В. Цитология, 1978, 20, стр. 947.
11. Шмидт Е. В., Лунев Д. К., Верещагин Н. В. Сосудистые заболевания головного и спинного мозга. М., 1976, стр. 215.
12. Эрли А. М. Сб. докл. симпозиума на тему: Клиническое значение препарата трептала. М., 1977, стр. 21.
13. Born G. V. J. Physiol., 1962. 162, 67.
14. O'Brien J., Heywood J., Heady J. Thrombos. Diathes. Haemorrh., 1966, 16, 752.
15. Nakao M. Cellular and molecular biology of erythrocytes, Tokyo, 1974, 463.