

УДК 612.12.015

Э. Е. МХЕЯН, С. Э. АКОПОВ, О. П. СОЦКИЙ

РОЛЬ ГЛИКОЛИПИДОВ В ПРОЦЕССЕ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ И ЭРИТРОЦИТОВ

Изучено влияние гликолипидов на агрегацию форменных элементов крови. Показано, что ганглиозиды и цереброзиды способны в значительной степени повышать агрегацию эритроцитов и тромбоцитов.

В патогенезе расстройств кровообращения, особенно на уровне микроциркуляции, большое значение придается агрегации форменных элементов крови—тромбоцитов и эритроцитов. Агрегаты последних, особенно эритроцитов, во многом определяют вязкость крови, способны вызвать закупорку капилляров и как следствие нарушения капиллярной трансфузии гипоксию и даже некроз тканей [13]. Однако факторы, регулирующие агрегацию форменных элементов крови, остаются невыясненными.

В настоящей работе изучалось влияние различных липидов на агрегацию тромбоцитов и эритроцитов.

Методика

Тромбоциты и эритроциты получали из свежей донорской крови и ресуспендировали в бестромбоцитарной плазме.

Агрегацию форменных элементов изучали на установке, собранной на базе спектрофотометра «Spescol» [18]. Степень агрегации оценивали в процентах падения оптической плотности. Степень обратимости агрегации характеризовали отношением $\frac{\text{степень дезагрегации}}{\text{степень агрегации}} \cdot 100\%$

[1]. В качестве агрегирующих факторов использовали для тромбоцитов АДФ (10^{-6} — 10^{-5} М), адреналин ($4 \cdot 10^{-6}$ М), серотонин ($2 \cdot 10^{-6}$ М), протаминсульфат (200 мкг/мл), а для эритроцитов γ -глобулин (10 мг/мл), комбинацию γ -глобулин+фибриноген (10 мг/мл+0,5 мг/мл), трипсин (0,5 мг/мл) и протаминсульфат (200 мкг/мл).

Ганглиозиды, цереброзиды получали из мозга людей, погибших от несчастных случаев, по методу Богоча в нашей модификации [9] и методу Weis [11]. Ганглиозиды растворяли непосредственно в плазме, время инкубации—2 часа [14]. Цереброзиды вносили в пробу в виде

озвученной дисперсии в концентрации 300 мкг/мл. После инкубации в растворе, содержащем какое-либо из перечисленных веществ, тромбоциты однократно отмывались и ресуспендировались в плазме.

На рисунках каждая точка—средняя результатов 7—10 опытов. Данные обработаны статистически с использованием непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни (по [4]).

Результаты и обсуждение

На рис. 1а представлены данные о влиянии ганглиозидов на АДФ-зависимую агрегацию тромбоцитов. Как видно из графиков, ганглиозиды в значительной степени усиливают агрегацию тромбоцитов. Однако этот эффект ганглиозидов почти исчезает после инкубации тромбоцитарной суспензии с 2 ммоль ЭДТА. Одновременно наблюдается и рез-

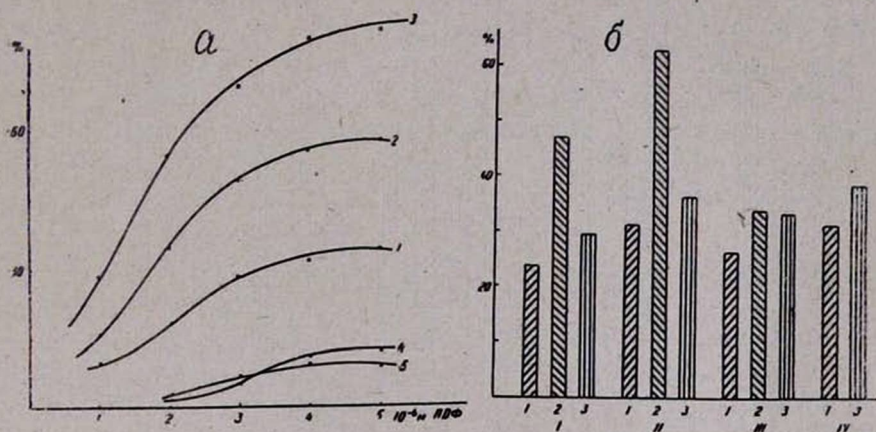


Рис. 1. а. Влияние ганглиозидов на АДФ-зависимую агрегацию тромбоцитов: 1—контроль; 2—после обработки ганглиозидами в концентрации 150 мкг/мл; 3—после обработки ганглиозидами в концентрации 300 мкг/мл; 4—агрегация тромбоцитов в условиях инкубации с 2 ммоль ЭДТА; 5—после обработки ганглиозидами (300 мкг/мл) в условиях инкубации с ЭДТА. б. Влияние ганглиозидов и цереброзидов на агрегацию тромбоцитов под воздействием серотонина (I), протаминасульфата (II), адреналина (III) и АДФ (IV). 1—контроль; 2—после обработки ганглиозидами (300 мкг/мл); 3—после обработки цереброзидами (300 мкг/мл)

кое падение агрегирующего воздействия АДФ, что подтверждает предположение о том, что АДФ связывается с тромбоцитами опосредованно через ионы кальция [5]. По-видимому, карбоксильные группы сиаловых кислот ганглиозидов создают дополнительные рецепторы для Ca^{2+} , а через него и для АДФ. Так как агрегирующий эффект АДФ пропорционален числу ее молекул, связавшихся с тромбоцитарной мембраной [10], эффект ганглиозидов можно объяснить увеличением числа рецепторных групп для комплекса Ca^{2+} —АДФ.

Повышением связывания агрегирующего фактора можно объяснить потенцирующий эффект ганглиозидов на агрегацию, вызванную серотином и протаминсульфатом (рис. 1 б), тем более что показана конкуренция между ними за связывание с тромбоцитарной мембраной [19], а это указывает на наличие общего рецептора.

Следовательно, можно предположить, что сиаловые кислоты ганглиозидов, встроившихся в тромбоцитарную мембрану, становятся дополнительным рецептором для некоторых агрегирующих факторов. Об этом же свидетельствуют данные, показывающие, что обработка тромбоцитов нейраминидазой резко уменьшает захват последними серотина [12].

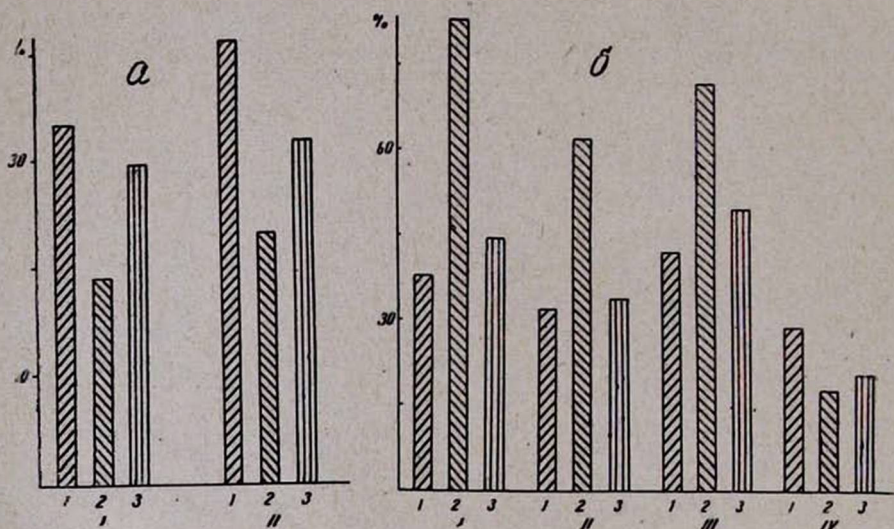


Рис. 2. Влияние ганглиозидов и цереброзидов а) на степень обратимости агрегации под воздействием серотонина (I) и АДФ (II); б) на агрегацию эритроцитов под воздействием протаминсульфата (I), γ -глобулина (II), γ -глобулина+фибриноген (III) и трипсина (IV). Остальные обозначения, как на рис. 1б.

Изменяя агрегацию тромбоцитов под влиянием некоторых факторов (Ca^{2+} , серотин, протаминсульфат), для которых показана выраженная способность связываться с ганглиозидами [3], последние могут повышать, хотя и слабо, и адреналинзависимую агрегацию тромбоцитов (рис. 1 б, III). При этом как следует из рис. 1 б, цереброзиды усиливают адреналинзависимую агрегацию тромбоцитов почти так же, как и ганглиозиды, хотя на агрегацию, вызванную другими факторами, действуют гораздо слабее последних. В литературе имеются данные о важной роли в процессе агрегации тромбоцитов «реакции высвобождения», т. е. способности последних к высвобождению из цитоплазмы различных индукторов агрегации [17]. Можно предположить, что действие ганглиозидов на агрегацию тромбоцитов связано не только с их спо-

способностью рецептировать различные факторы агрегации, но и с усилением ими «реакции высвобождения». Эффект ганглиозидов на «реакцию высвобождения» может быть объяснен их способностью связывать дополнительные количества ионов кальция [17], но он может быть связан и с их способностью вызывать сокращение миоиноподобного белка тромбоцитов. В случае же цереброзидов, не имеющих сиаловой кислоты, но сходных по структуре с ганглиозидами, эффект может быть обусловлен только их способностью усиливать «реакции высвобождения».

Интересно отметить, что как ганглиозиды, так и цереброзиды не только вызывают усиление агрегации тромбоцитов, но и приводят к увеличению прочности образовавшихся агрегатов, что проявляется в уменьшении обратимости агрегации (рис. 2 а).

Последующие эксперименты показали, что гликолипиды способны влиять и на агрегацию эритроцитов. Как следует из рис. 2 б, ганглиозиды усиливают агрегацию под воздействием протаминсульфата, γ -глобулина и комбинации γ -глобулина и фибриногена. И в этом случае, вероятно, эффект обусловлен появлением дополнительных карбоксильных групп сиаловой кислоты на поверхности эритроцитов, служащих рецепторами для связывания использованных агрегирующих факторов. Аналогичные данные о сиаловой кислоте, как участке связывания некоторых агрегирующих факторов, приводятся в литературе [15, 16].

Интересно, что на трипсинзависимую агрегацию ганглиозиды оказывают противоположный эффект (рис. 2б). Трипсин вызывает агрегацию эритроцитов, активируя фосфолипазу, что приводит к гидролизу фосфолипидов и развитию агрегации [6]. Подавляющий эффект ганглиозидов на вызываемую трипсином агрегацию, таким образом, может быть связан с их способностью подавлять фосфолипазу или с повышением электроотрицательности мембраны эритроцитов. Однако первое предположение предпочтительнее, поскольку нейтральные гликолипиды (цереброзиды) также подавляют трипсинзависимую агрегацию. Не исключено, что гликолипиды подавляют трипсинзависимую агрегацию эритроцитов и за счет показанного ранее ингибирующего действия на протеолитические ферменты [2]. Одновременно цереброзиды усиливают, хотя и слабо, агрегацию под воздействием других агрегирующих факторов (рис. 2б), что может быть связано с их способностью вызывать увеличение гидрофобности мембранной поверхности [8].

Итак, проведенное исследование показывает важную роль гликолипидов в процессе агрегации форменных элементов крови, что особенно важно, если учесть повышение их концентрации в плазме и форменных элементах крови при некоторых формах нарушений кровообращения [7].

Кафедра общей и клинической химии и группа по изучению
мозгового кровообращения Ереванского мед. института

Поступила 10/VII 1979 г.

ԳԼԻԿՈԼԻՊԻԴՆԵՐԻ ԴԵՐԸ ԹՐՈՄԲՈՑԻՏՆԵՐԻ ԵՎ ԷՐԻԹՐՈՑԻՏՆԵՐԻ
ԱԳՐԵԳԱՑԻԱՑԻ ՊՐՈՑԵՍՈՒՄ

Ուսումնասիրված է գլիկոլիպիդների ազդեցությունը արյան ձևավոր տարրերի վրա: Ցույց է տրված, որ գանգլիոզիդները և ցերեբրոզիդները ի վիճակի են զգալի կերպով բարձրացնել թրոմբոցիտների և էրիթրոցիտների ագրեգացիան:

E. E. MKHEYAN, S. E. AKOPOV, O. P. SOTSKI

THE ROLE OF GLYCOLIPIDS IN AGGREGATION PROCESS OF
THROMBOCYTES AND ERYTHROCYTES

The influence of glycolipids on the aggregation of the blood form elements is studied. It is shown that the gangliosides and the cerebrosydes are able to raise to a considerable extent the aggregation of erythrocytes and thrombocytes.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абдулаев А. А. Кардиология, 1978, 18, 8, стр. 118.
2. Авакян Э. А. Материалы конференции молодых ученых. Ереван, 1975, стр. 13.
3. Вейнберг А. Я., Чуприянова Н. Е., Родионов Ю. В., Самохвалов Г. И. Биофизика, 1975, 20, стр. 388.
4. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение непараметрических критериев в медико-биологических исследованиях. Л., 1973.
5. Лакин К. М., Фельдбаум В. А., Лебедев А. А. Фармакол. и токсикол., 1971, 34, стр. 104.
6. Левин Г. Я., Шереметьев Ю. А. Фармакол. и токсикол., 1978, 1, стр. 85.
7. Мирзоян С. А., Мхоян Э. Е., Секоян Э. С. и др. Ж. невропатол. и психиатр., 1978, 78, стр. 317.
8. Мхоян Э. Е., Акопов С. Э., Соцкий О. П., Баджигян С. А. Биофизика, в печати.
9. Мхоян Э. Е., Шахбатян Ш. П. Вопросы биохимии мозга, 1975, 10, стр. 185.
10. Boullin D. J., Green A. R., Price K. S. J. Physiol., 1972, 221, 415.
11. Wels B. J. Biol. Chem., 1956, 223, 523.
12. Glinn M. F. Amer. J. Clin. Pathol., 1973, 60, 637.
13. Dintenfass L. Blood Microrheology; Viscosity Factors in Blood Flow, Ischemia and Thrombosis. New York, 1971.
14. Cailles R., Schwarzmann G., Radsak K., Stegert R., Wiegandt H. Eur. J. Biochem., 1977, 80, 425.
15. Jan Kung-Ming, Chien Shu J. Gen. Physiol., 1973, 61, 655.
16. Marikovsky Y., Danon D. Biorheology, 1974, 11, 349.
17. Ryo R., Yasunaga K. Acta. haematol. Jap., 1974, 37, 141.
18. Stepanauskas M., Nugel E., Brzezinka K., Egger E. Z. Med. Laboratoriumsdiagn., 1977, 18, 368.
19. Zbinden G., Mehrishi J. N., Tomlin S. Thromb. et Diath. Haemorrh., 1970, 23, 261.